



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

CARRERA DE QUÍMICA DE ALIMENTOS

**VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN
ATÓMICA ELECTROTERMICA PARA LA DETERMINACIÓN DE COBRE Y
VANADIO EN AGUAS LIMPIAS Y RESIDUALES**

Autora: Mayra Verónica Vásconez Novoa

Tesis para optar por el Título profesional de Químico en Alimentos.

Tutor: Dr. Wilson Parra

Quito, Julio 2012

Vásconez Novoa, Mayra (2012). **Validación del método de espectrofotometría de absorción atómica electrotérmica para la determinación de cobre y vanadio en aguas limpias y residuales.** Trabajo de investigación para optar por el grado de Química de Alimentos Carrera de Química de Alimentos. UCE. 137 h.

Lugar donde se realizó la investigación.

La presente investigación se realizó en los laboratorios de Oferta de Servicios y Productos (OSP), laboratorio de Química Ambiental, área de Absorción Atómica, ubicada en la Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Químicas.

DEDICATORIA

A Dios y a la Santísima Virgen María por darme la oportunidad de realizarme como persona y como profesional acompañado y guiando mi camino cada momento

A mis padres, que son pilares fundamentales de mi vida y que pusieron en mí toda su confianza ejemplo, apoyo y esfuerzo cotidiano, para que culmine todas mis metas.

A mis hermanos por compartir día a día experiencias risas y sobre todo por haberme dado consejos para continuar mi carrera cuando más lo necesitaba.

A mis amigos por su lealtad, confianza, y por compartir juntos estos años de estudio.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios, porque camina conmigo y me llena de bendiciones, alegrías y fuerzas para enfrentar su voluntad, de la mano de María he logrado combatir batallas fuertes e inexplicables.

Agradezco a la Universidad Central del Ecuador, Al Laboratorio OSP, a cada uno de los docentes que comprenden el Área de Ambiental de la Facultad de Ciencias Químicas, por permitirme llevar a cabo el desarrollo de la presente investigación.

A mi Tutor de Tesis, Dr. Wilson Parra, por brindarme sus conocimientos, apoyo e interés en este proyecto de investigación y por compartir sus amplios conocimientos y experiencias.

A los miembros de mi tribunal Dra. Consuelo Andrade y Dr. Arturo Bastidas por su acogida y especialmente por hacer posible la realización de este trabajo de investigación.

A mis padres y hermanos, quienes con amor, comprensión y cariño me ayudaron, hoy se ve reflejado su esfuerzo al culminar mis estudios superiores.

A Jorge Tafur, por aconsejarme alentarme y compartir experiencias juntos mil gracias por estar conmigo siempre.

A mis familiares y amigos más cercanos, que siempre me han acompañado y apoyado en las buenas y en las malas, se que cuento con ustedes para siempre.

AUTORIZACIÓN DEL AUTOR

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE QUÍMICA DE ALIMENTO

Yo, Mayra Verónica Vásquez Novoa en calidad de autor del trabajo de investigación o tesis realizada sobre **''Validación del método de espectrofotometría de absorción atómica electrotrémica para la determinación de cobre y vanadio en aguas limpias y residuales''**, por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o de parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autor me corresponden, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5,6,8; 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Quito, a 23 de Julio del 2012

FIRMA

C.C.: 171945398-5

APROBACIÓN DEL TUTOR

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
CARRERA DE QUIMICA DE ALIMENTOS

Por la presente, dejo constancia que he leído la Tesis presentado por la Señorita Verónica Vásquez Novoa para optar por el título profesional de Químico de Alimentos cuyo tema es **“VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA ELECTROTERMICA PARA LA DETERMINACIÓN DE COBRE Y VANADIO EN AGUAS LIMPIAS Y RESIDUALES”**, la misma que reúne los requerimientos, y los méritos suficientes para ser sometido a evaluación por el Tribunal Calificador.

En la ciudad de Quito, a los 25 días del mes de Junio del 2012

Wilson Parra
CI: 1801099902

INFORME DEL TRIBUNAL CALIFICADOR

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

INFORME DEL TRIBUNAL CALIFICADOR

Quito, 23 DE JULIO DE 2012.

Señor
DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
Presente

Señor Decano:

El Tribunal encargado de calificar la Tesis: "VALIDACIÓN DEL MÉTODO
DE ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA ELECTRO-
TÉRMICA PARA LA DETERMINACIÓN DE COBRE Y VANADIO
EN AGUAS LIMPIAS Y RESIDUALES"

presentada por: MAYRA VASCONEZ NOVOA

estudiante de la Carrera de: QUÍMICA DE ALIMENTOS

luego del estudio y revisión correspondiente, resolvió:

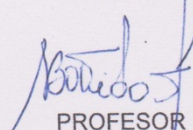
APROBAR ☒ la Tesis con la NOTA de: NUEVE - SIETE (9.7)

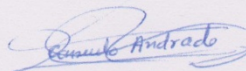
y autorizar para que la escriba definitivamente.

REPROBAR ☐ la Tesis.

Es cuanto podemos informar.

Atentamente,


PROFESOR
Nombre: ARTURO BASTIDAS.


PROFESOR
Nombre: Consuelo Andrade

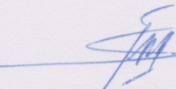

PROFESOR
Nombre: WILSON PARRA M.

TABLA DE CONTENIDO

Contenido

1. INTRODUCCIÓN.....	18
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA O HIPÓTESIS DE TRABAJO.....	18
1.3. OBJETIVO GENERAL.....	19
1.4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
1.5. IMPORTANCIA Y JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	19
2. MARCO TEÓRICO	22
2.1. ANTECEDENTES.....	22
2.2. FUNDAMENTO TEÓRICO.....	23
2.2.1. Espectrofotometría de Absorción Atómica.....	23
2.2.2. Validación de Métodos Analíticos.....	42
2.2.3. El Agua.....	50
2.2.4. Iones Metálicos Disueltos en el Agua	56
2.3. FUNDAMENTO LEGAL	60
3. METODOLOGÍA	62
3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN	62
3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA	62
3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	62
3.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS ANALÍTICOS.....	64
3.4.1. Método.....	64

3.4.2.	<i>Equipos.....</i>	<i>64</i>
3.4.3.	<i>Materiales.....</i>	<i>65</i>
3.4.4.	<i>Reactivos Y Patrones</i>	<i>66</i>
3.4.5.	<i>Preparación de la Curva de Calibración de los Metales Cobre y Vanadio</i>	<i>66</i>
3.4.6.	<i>Procedimiento Del Tratamiento De Muestras.....</i>	<i>68</i>
3.4.7.	<i>procedimiento de validación del método para determinar cobre y vanadio</i>	<i>69</i>
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	78
4.1.	TABLAS DE DATOS EXPERIMENTALES Y CALCULOS DEL COBRE.....	78
4.1.1.	<i>Límite de Detección (LD) y Límite de Cuantificación (LC)</i>	<i>78</i>
4.1.2.	<i>Repetibilidad (Lr).....</i>	<i>79</i>
4.1.3.	<i>Reproducibilidad (LR).....</i>	<i>83</i>
4.1.5.	<i>Cálculo del Z score.</i>	<i>87</i>
4.1.6.	<i>Linealidad.....</i>	<i>88</i>
4.1.7.	<i>Recuperabilidad.....</i>	<i>89</i>
4.1.8.	<i>Evaluación de la incertidumbre debido a los equipos de medida para la determinación de cobre.....</i>	<i>90</i>
4.1.9.	<i>Cálculo de la Incertidumbre acumulada.....</i>	<i>90</i>
4.1.10.	<i>Cálculo de la Incertidumbre expandida.....</i>	<i>90</i>
4.1.11.	<i>Intervalo de Trabajo.</i>	<i>91</i>
4.1.12.	<i>Resumen de la Validación.</i>	<i>92</i>
4.2.	TABLAS DE DATOS EXPERIMENTALES Y CALCULOS DEL VANADIO	93
4.2.1.	<i>Límite de Detección (LD) y Límite de Cuantificación (LC)</i>	<i>93</i>
4.2.2.	<i>Repetibilidad (Lr).....</i>	<i>93</i>
4.2.3.	<i>Reproducibilidad (LR).....</i>	<i>98</i>
4.2.4.	<i>Exactitud</i>	<i>102</i>
4.2.5.	<i>Cálculo del Z score</i>	<i>102</i>
4.2.6.	<i>Linealidad.....</i>	<i>103</i>

4.2.7.	<i>Recuperabilidad.....</i>	<i>104</i>
4.2.8.	<i>Evaluación de la Incertidumbre Debido a los Equipos de Medida para la Determinación de Vanadio.</i>	<i>105</i>
4.2.9.	<i>Cálculo de la Incertidumbre acumulada.....</i>	<i>105</i>
4.2.10.	<i>Cálculo de la Incertidumbre expandida.....</i>	<i>106</i>
4.2.11.	<i>Intervalo de Trabajo.</i>	<i>106</i>
4.2.12.	<i>Resumen de la Validación.</i>	<i>107</i>
5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	109
5.1.	CONCLUSIONES.....	109
5.2.	RECOMENDACIONES	111
6.	BIBLIOGRAFÍA.....	113

LISTA DE TABLAS

Tabla 1 Métodos espectroscópicos generales basados en la radiación electromagnética	26
Tabla 2 Límites de detección ($\mu\text{g/L}$) en llama y con horno de grafito	40
Tabla 3 Variación en los factores para la determinación de la robustez	49
Tabla 4 Efectos causados por los contaminantes presentes en las aguas residuales	55
Tabla 5 Número de análisis para el cobre incluido el material de referencia	63
Tabla 6 Número de análisis para el cobre incluido el material de referencia	63
Tabla 7 Estándares para la curva de calibración del cobre	67
Tabla 8 Estándares para la curva de calibración	68
Tabla 9. Condiciones de Trabajo en el Espectrofotómetro de Absorción Atómica Electrotérmica para la detección de Cobre y Vanadio.....	70
Tabla 10. Condiciones del Horno de Grafito para el Cobre	70
Tabla 11. Condiciones del Horno de Grafito para el Vanadio.....	71
Tabla 12 Criterios De Validación	73
Tabla 13. Incertidumbres de Equipos.....	74
Tabla 14. Criterios de aceptación o rechazo de la validación.....	76
Tabla 15 Datos experimentales para la determinación del Límite de Detección y Límite de Cuantificación.....	78
Tabla 16 Datos Experimentales para la Determinación de la Repetibilidad en el Punto Uno.....	79
Tabla 17 Datos Experimentales para la Determinación de la Repetibilidad en el Punto Dos	80
Tabla 18 Datos Experimentales para la Determinación de la Repetibilidad en el Punto Tres	81
Tabla 19 Cálculos estadísticos para la Determinación de la Repetibilidad	81
Tabla 20. Datos Experimentales para la Determinación de la Reproducibilidad en el punto uno....	83
Tabla 21. Datos Experimentales para la Determinación de la Reproducibilidad en el punto dos	84
Tabla 22. Datos Experimentales para la Determinación de la Reproducibilidad en el punto tres	85
Tabla 23. Cálculos estadísticos para la Determinación de la Reproducibilidad del cobre	85
Tabla 24. Datos Teóricos del Material de Referencia Certificado de la Determinación del Cobre ..	86

Tabla 25. Datos Experimentales del Material de Referencia Certificado para la Determinación de la Exactitud del Cobre.....	87
Tabla 26. Cálculo Experimental para la Determinación de la Linealidad del Cobre.....	88
Tabla 27. Resultados Calculados de la Linealidad del Cobre.....	89
Tabla 28. Cálculos de la Recuperabilidad del Cobre	89
Tabla 29. Contribuciones del Tipo A.....	90
Tabla 30. Contribuciones del Tipo B	90
Tabla 31. Rango de Trabajo	91
Tabla 32 Datos experimentales para la determinación del Límite de Detección y Límite de Cuantificación.....	93
Tabla 33 Datos Experimentales para la Determinación de la Repetibilidad en el Punto Uno.....	94
Tabla 34 Datos Experimentales para la Determinación de la Repetibilidad en el Punto Dos	95
Tabla 35 Datos Experimentales para la Determinación de la Repetibilidad en el Punto Tres	96
Tabla 36 Cálculos estadísticos para la Determinación de la Repetibilidad del Vanadio.....	97
Tabla 37. Datos Experimentales para la Determinación de la Reproducibilidad del Vanadio en el Punto Uno.....	98
Tabla 38. Datos Experimentales para la Determinación de la Reproducibilidad del Vanadio en el Punto Dos	99
Tabla 39. Datos Experimentales para la Determinación de la Reproducibilidad del Vanadio en el Punto Tres	100
Tabla 40. Cálculos estadísticos para la Determinación de la Reproducibilidad de vanadio	101
Tabla 41. Datos Teóricos del Material de Referencia Certificado de la Determinación del vanadio	102
Tabla 42 Datos Experimentales del Material de Referencia Certificado para la Determinación de la Exactitud del Vanadio.....	102
Tabla 43. Cálculo Experimental para la Determinación de la Linealidad del Vanadio	103
Tabla 44. Resultados Calculados de la Linealidad del Vanadio	104
Tabla 45 Cálculos de la Recuperabilidad del Vanadio	104
Tabla 46. Contribuciones del Tipo A.....	105
Tabla 47. Contribuciones del Tipo B	105

Tabla 48. Rango de Trabajo	106
Tabla 49. Criterios de aceptación y rechazo de validación	109
Tabla 50 Resultados Estadísticos de la Repetibilidad y Reproducibilidad del Cobre.....	110
Tabla 51 Resultados Estadísticos de la Repetibilidad y Reproducibilidad del Vanadio	111

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 Representación de una onda electromagnética polarizada en el plano.....	24
FIGURA 2 Regiones del espectro electromagnético	25
FIGURA 3 Algunos espectros de absorción ultravioleta característicos.....	27
FIGURA 4 Atenuación de un haz de radiación por una disolución absorbente	28
FIGURA 5 Relación de Absorbancia vs. Concentración	30
FIGURA 6 Componentes básicos de un espectrofotómetro de absorción atómica.	32
FIGURA 7 Etapas del Proceso de Atomización del metal.....	33
FIGURA 8 Espectrofotómetro de Absorción Atómica de Llama.....	35
FIGURA 9 Cubeta de L'vov.	38
FIGURA 10 Horno de grafito.....	38
FIGURA 11 Programa de temperaturas en el horno de grafito.....	39
FIGURA 12 Márgenes aproximados de límites de detección.	41
FFIGURA 13 Estructura de la molécula del agua	51
FIGURA 14. Espectrofotómetro de absorción atómica	64
FIGURA 15. Horno de Grafito y auto muestreador.....	64
FIGURA 16. Destilador de Agua Clase 1	65
FIGURA 17. Viales de Polietileno	65
FIGURA 18. Cilindro de Gas Argón	66
FIGURA 19. Linealidad del Cobre.....	88
FIGURA 20. Linealidad del Vanadio	103

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1 PARÁMETROS DE VALIDACIÓN RECOMENDADOS PARA DIFERENTES MÉTODOS	ii
ANEXO 2 NORMA TÉCNICA DE CALIDAD AMBIENTAL.....	v
ANEXO 3 NORMA APHA, AWWA 3113B	x
ANEXO 4 TABLA DE DISTRIBUCIÓN F DE FISHER.....	xvii
ANEXO 5 CERTIFICADOS DE PATRONES PRIMARIOS DE ANALISIS.....	i
ANEXO 6 CONSTANCIA DE LA ELABORACIÓN DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN...	ix

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo la Validación del Método Espectrofotométrico de Absorción Atómica Electrotérmica para la Detección de Cobre y Vanadio en Aguas Limpias y Residuales; y que será utilizado por el Laboratorio de Ofertas de Servicios y Productos (OSP) en el Área de Química Ambiental, ya que dicho laboratorio no cuenta con un método estandarizado para la detección de Cobre y Vanadio por absorción atómica electrotérmica.

La absorción atómica es una excelente técnica para ciertos elementos cuando se requiere determinar rangos muy bajos de límites de detección ya que permite la determinación de micro cantidades de metales en muestras líquidas y sólidas.

La técnica electrotérmica está indicada solamente en el caso de niveles de concentración por debajo del intervalo óptimo en absorción atómica directa a la llama.

Siguiendo el instructivo de validación del laboratorio EURACHEM se evaluaron los siguientes parámetros: límite de detección, límite de cuantificación, repetibilidad, reproducibilidad, linealidad, exactitud, incertidumbre de trabajo, intervalo de trabajo, los mismos que fueron evaluados a través de materiales de referencia certificados (MRC), y un blanco (agua libre de metales).

Finalmente se demostró el cumplimiento de los parámetros de validación comprobándose de esta forma la validez de los métodos analíticos y su aplicación en análisis de aguas limpias y residuales de acuerdo con la Norma INEN 1108:2010 y TULAS respectivamente.

Palabras Claves: Validación, absorción atómica electrotérmica, Material de referencia, Cobre, Vanadio.

ABSTRACT

The present research aims to Validate the Method of Electrothermal Atomic Absorption Spectrophotometry for detection of copper and vanadium in clean water and wastewater, which will be used by the Laboratory Products and Service Offerings (OSP) in the Area of Chemistry Environment, because the laboratory does not have a standardized method for detection of copper and vanadium by Electrothermal Atomic Absorption.

The atomic absorption is an excellent technique for certain elements when requires determining very low limits of detection and allowing the determination of micro amounts of metals in liquid and solid samples.

Electrothermal technique is indicated only in case of levels of concentration below the optimum range to direct flame atomic absorption.

Following the instructions of validation from EURACHEM, were evaluated the following parameters: limit of detection, limit of quantification, repeatability, reproducibility, linearity, accuracy, uncertainty of work, interval of work, they were evaluated through certificate reference materials (MRC) and white (metal-free water).

Finally, was demonstrated the performance of the validation parameters verifying in this way the validity of the analytical methods and their application in the analysis of clean water and wastewater according with INEN 1108:2010 and TULAS standarts respectively.

Keywords: Validation, Electrothermal Atomic Absorption, Reference Material, Copper, Vanadium.

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los metales son componentes naturales de la corteza terrestre y tienen un papel importante en los organismos al ser parte fundamental de sus funciones bioquímicas y fisiológicas. Pero también pueden actuar como potentes tóxicos, y algunos incluso cancerígenos tanto para los seres humanos como para el ecosistema, según sean sus vías de exposición, la dosis absorbida y la naturaleza química del metal. La población puede estar expuesta a estos contaminantes como consecuencia de su extensa difusión en el medio. Una de las vías más importantes de exposición suele ser el consumo de aguas contaminadas con dichos metales.

Por lo cual las organizaciones ecuatorianas en el afán de proteger la salud pública, exigen el cumplimiento de las normas establecidas por el Distrito Metropolitano de Quito en aguas tratadas y de consumo humano. Es por esto que los laboratorios validan métodos de ensayo para cumplir dichas normas y respaldar las certificaciones y resultados emitidos.

La validación de un método de ensayo es un requisito primordial cuando se desee obtener resultados técnicamente validados, exactos y confiables ya que en caso de discrepancia o controversias sobre resultados emitidos por los laboratorios, tienen prioridad los realizados con métodos validados. Garantizando así que el laboratorio tenga bajo control uno de los factores que incide en la confiabilidad y exactitud de los resultados que informa.

El laboratorio de OSP (oferta de servicios y productos de la Universidad Central del Ecuador) en el departamento de química ambiental, tiene la necesidad de validar métodos de análisis químicos, siendo uno de éstos la determinación de cobre (Cu) y vanadio (V), por espectrofotometría de absorción atómica mediante horno de grafito ya que emite resultados que son utilizados para respaldar las certificaciones a empresas a nivel nacional.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA O HIPÓTESIS DE TRABAJO

¿El método de espectrofotometría de absorción atómica electrotérmica cumplirá con los parámetros de validación exigidos por el organismo de acreditación ecuatoriana en el análisis de cobre y

vanadio en aguas limpias y residuales bajo las condiciones establecidas en el laboratorio de Ofertas de Servicios y Productos (OSP) área de ambiental.?

1.3. OBJETIVO GENERAL

- Validar el método de espectrofotometría de absorción atómica electrotérmica para la determinación de Cobre y Vanadio en aguas limpias y residuales.

1.4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Poner en funcionamiento el espectrofotómetro de absorción atómica electrotérmica PERKIN ELMER ANALYST 100, acoplado el horno de grafito PERKIN ELMER AGH 800.
- Determinar los parámetros de calidad para la aplicación de un sistema de validación según la Guía de Laboratorio para Validación de Métodos (Eurachem):
 - Exactitud
 - Precisión (repetibilidad, reproducibilidad)
 - Linealidad
 - Sensibilidad
 - Límite de detección
 - Límite de cuantificación
 - Incertidumbre.
- Interpretar los resultados obtenidos en los análisis para cada analito.
- Verificar el cumplimiento de las exigencias que pide el OAE, para que este método de validación conste en el documento Alcance de Acreditación del Laboratorio de la OSP.

1.5. IMPORTANCIA Y JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

El agua pura, es el recurso natural más valioso que juega un papel único en los procesos de la vida, además es un recurso renovable; sin embargo, puede llegar a estar tan contaminada por las actividades humanas, y ya no será útil, sino más bien nociva, representando un serio problema ecológico para su amplio uso y alta concurrencia en el ambiente.

Es por esta razón que el hombre ha adoptado alternativas para obtener agua de buena calidad y apta para el consumo (Agarry, 2008).

La Agencia de Protección Ambiental (con sus siglas en inglés, EPA) de los Estados Unidos ha definido al vanadio y al cobre como compuestos contaminantes desde 1985; por otro lado, la Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades (con sus siglas en inglés, ATSDR) ha reportado los efectos adversos que presenta la ingestión de vanadio y cobre en la salud humana, mencionando que puede causar afecciones al corazón, hígado, riñones y el bazo, al ingerir altas cantidades de dichos metales (ATSDR, 2007)

Según la Resolución N° 0002-DMA-2008 LA DIRECCION METROPOLITANA AMBIENTAL emite la Ordenanza Metropolitana N° 213 que en el Art. II.381.45 señala que la elaboración de normas técnicas de calidad ambiental y de emisión, descargas y vertidos que optimicen los procesos y permitan contar con la información necesaria para mejorar la gestión ambiental y que es necesario asegurar un adecuado control de la contaminación en el Distrito Metropolitano de Quito y garantizar la calidad de vida de los habitantes en base en el cumplimiento a las normas vigentes. (Echaninque, 2008)

Según la resolución N°003 2005 LA DIRECCION METROPOLITANA DE MEDIO AMBIENTE establece que los laboratorios que realicen los ensayos analíticos para la determinación del grado de contaminación de las descargas líquidas deberán contar con el certificado de acreditación otorgado por el Organismo de Acreditación Ecuatoriano (OAE) o por un organismo reconocido a nivel internacional con el cual exista o se establezca un acuerdo de reconocimiento mutuo con el OAE, dentro del campo de acción del laboratorio ambiental. (Echaninque, 2005)

Los análisis que se llevan a cabo por espectrofotometría de absorción atómica a la llama en el laboratorio de Ofertas de Servicios y Productos de la Universidad Central del Ecuador en el área de química ambiental determina concentraciones de metales en el orden de partes por millón (ppm). Al utilizar el espectrofotómetro de absorción atómica con horno de grafito nos se mejorará la sensibilidad en las lecturas de concentraciones de metales en el orden de partes por billón (ppb).

Por lo dicho anteriormente, el Laboratorio de Ofertas de Servicios y Productos (OSP) Área de Ambiental, como laboratorio acreditado por el Organismo de Acreditación Ecuatoriano (OAE) requiere validar este método para la medición de los metales cobre y vanadio con el fin de brindar a sus clientes resultados confiables y veraces.

CAPITULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES.

Según la Constitución de Montecristi, artículo doce: “El derecho humano al agua es fundamental e irrenunciable. El agua constituye patrimonio nacional estratégico de uso público, imprescriptible, inembargable y esencial para la vida.” Uno de los puntos donde más se avanzó en la Asamblea Constituyente de Montecristi fue el relativo al tratamiento del agua y los recursos hídricos.

En la última década se han reportado, en la literatura internacional, algunos impactos en salud derivados de exposición a Cobre por consumo de agua potable, lo que ha generado preocupación en diversos grupos de investigadores así como en los países productores de este metal, como es el caso de Chile (Olivares et al, 2000; Olivares et al, 2001).

D. Gregori, Delgado, Pinochet, (Estudio de Posgrado de la Universidad Católica de Valparaíso), realizaron un estudio en las costas de Chile titulado “Tratamiento de muestras de origen marino para el análisis de metales trazas”, en el cual se trabajó con muestras de moluscos y sedimentos para determinar un sin número de metales traza mediante el uso de absorción atómica electrotrémica. Otro estudio realizado por estos autores se denomina, “Aseguramiento de la calidad analítica en los análisis de cadmio, cobre, plomo, vanadio en muestras de moluscos bivalvos, en el cual se realizaron análisis con diferentes técnicas incluida la absorción atómica con horno de grafito, para tener un patrón de comparación y establecer metodologías analíticas confiables para el análisis de estos metales en matrices de moluscos bivalvos” las que actualmente son aplicados en estudios ambientales en las costas de Chile.

Es importante considerar las cantidades de plomo, cadmio, cobre y vanadio en el ambiente; es decir en aire, agua y suelo porque debido a distintos mecanismos, por ejemplo el ciclo de agua, por parte de los metales pesados que se encuentran en el aire, suelo y agua van a depositarse en los mares y esta es la principal fuente de contaminación de las aguas limpias; donde viven plantas y animales que acumulan estos metales en diferentes partes de su organismo. (Chun Ho, 2000)

El laboratorio de Ofertas de Servicios y Productos (OSP) ha brindado desde el año de 1998 un servicio integrado de análisis ambientales, microbiológicos y bromatológicos para una variedad de industrias y organizaciones.

Entre los requisitos técnicos establecidos en la norma ISO/IEC 17025 se encuentra la validación de métodos, es por esto que el laboratorio de Oferta de Servicios y Productos (OSP) de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador, obtuvo la acreditación INEN ISO 17025, a nivel nacional por el Organismo de Acreditación Ecuatoriana (OAE) en el año 2004, con el fin de garantizar que el laboratorio analice y tenga bajo control uno de los factores que incide en la conformidad y exactitud de los resultados que informa. Actualmente el Laboratorio OSP cuenta con la acreditación en muestras de aguas, suelos, ruido, alimentos y microbiología.

2.2. FUNDAMENTO TEÓRICO

Las diferentes observaciones realizadas, a través de muchos años, desde diferentes campos de la ciencia han llevado al planteamiento de diferentes modelos y varias teorías para responder el fenómeno de la absorción y emisión de luz por átomos y moléculas. Algunas teorías han sido rebatidas porque los hechos experimentales las contradicen, otras se han mantenido y confirmado porque los hechos experimentales o son explicados por ellas o la confirman.

El conocimiento actual, tanto teórico como experimental indica que la absorción y emisión de luz por parte de las sustancias se origina en la estructura misma de las moléculas y de los átomos. El tamaño, la forma, la flexibilidad de las moléculas, la distribución de los electrones en átomos y moléculas, es decir la estructura de la sustancia origina la especificidad en la radiación absorbida por ellas o emitida por ellas.

2.2.1. ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

2.2.1.1. Radiación Electromagnética

La radiación electromagnética es una clase de energía que transmite por el espacio a enormes velocidades. Adopta muchas formas, siendo la más fácilmente reconocible la luz y el calor radiante. Otras manifestaciones menos evidentes son la radiación gama, de rayos X, ultravioleta de microondas y de radiofrecuencias.

2.2.1.1.1. Propiedades generales de la radiación electromagnética

Muchas de las propiedades de la radiación electromagnética se describen adecuadamente con un modelo clásico sinusoidal, que utiliza parámetros de longitud de onda, frecuencia, velocidad y amplitud. A diferencia de otros fenómenos como el sonido, la radiación electromagnética no necesita un medio de apoyo para transmitirse y por lo tanto se propaga fácilmente a través del vacío.

El modelo ondulatorio falla al intentar explicar fenómenos asociados con la absorción o la emisión de la energía radiante. Para comprender mejor estos procesos, hay que acudir a un modelo corpuscular en el que la radiación electromagnética se contempla como un flujo de partículas discretas o paquetes ondulatorios de energía denominados *fotones*, en los que la energía de un fotón es proporcional a la frecuencia de la radiación.

Este doble punto de vista de la radiación como partícula y como onda es complementario. De hecho la dualidad se aplica al comportamiento de haces de electrones y de otras partículas elementales como los protones, y se racionaliza completamente por medio de la mecánica ondulatoria.

La Figura 1 es una representación de este tipo para un rayo individual de una radiación electromagnética polarizada en el plano. (*Polarizada en el plano significa que todas las tanto las oscilaciones del campo eléctrico como del magnético están en un solo plano*).

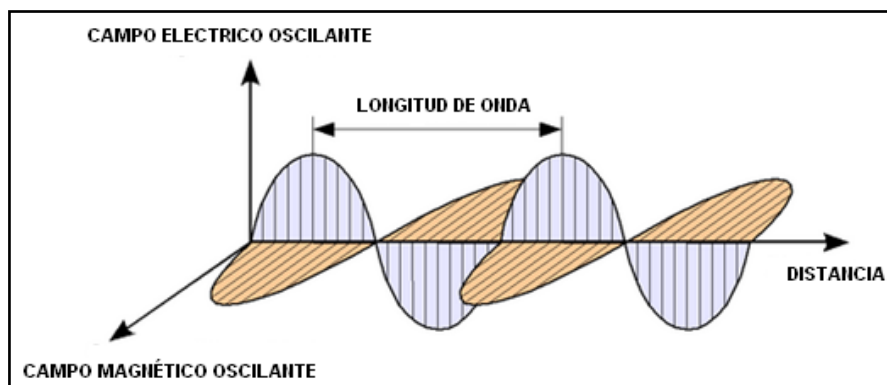


FIGURA 1 Representación de una onda electromagnética polarizada en el plano.

Fuente: (Gonzales Perez, 2008)

La componente magnética de la radiación electromagnética es la responsable de la absorción de las ondas de radiofrecuencia en la espectroscopía de resonancia magnética nuclear. Y la componente eléctrica de la radiación, ya que el campo eléctrico es el responsable de la mayoría de los fenómenos tales como; la transmisión, la reflexión, la refracción y la absorción.

2.2.1.2. Espectro Electromagnético

El espectro electromagnético abarca un intervalo enorme (escala logarítmica) de longitudes de onda y de frecuencias.

Las divisiones se basan en los métodos que se precisan para generar y detectar las diversas clases de radiación. La región visible del espectro percibido por el ojo humano (luz blanca) es muy pequeña si se compara con otras regiones espectrales.

Los métodos espectroquímicos que utilizan no solo la radiación visible sino también la ultravioleta e infrarrojo se denominan métodos ópticos.

Esta terminología surge de las muchas características comunes de los instrumentos utilizados para las tres regiones espectrales y de las similitudes que se observan en las interacciones de los tres tipos de radiación con la materia. Obsérvese en la Figura 2 que la porción del espectro percibida por el ojo humano es muy pequeña si se compara con otras regiones espectrales. (Skoog, Holler, & Crouch, 2008)

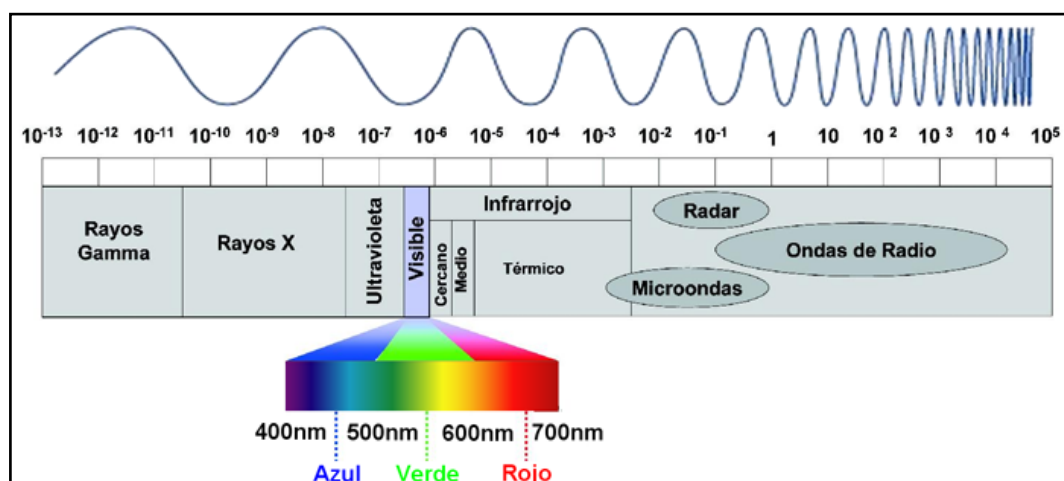


FIGURA 2 Regiones del espectro electromagnético

Fuente: (Gonzales Perez, 2008)

2.2.1.3. Espectroscopía

Históricamente el término espectroscopía se refería a una rama de la ciencia en la que la luz, o radiación visible, se descomponía en sus longitudes de onda componentes, originándose así espectros, que se usaban para estudios teóricos de la estructura de la materia o para análisis cualitativos y cuantitativos.

Sin embargo, con el tiempo, el significado de espectroscopía se amplió para incluir en la utilización de no sólo la luz sino también otros tipos de radiación electromagnética. La Tabla 1 recoge los intervalos de longitud de onda y de frecuencia de las regiones del espectro que interesan con fines analíticos así como los nombres de los diversos métodos espectroscópicos asociados con cada uno. La última columna de la tabla indica los tipos de transiciones cuánticas nucleares, atómicas o moleculares que constituyen el fundamento de las distintas técnicas espectroscópicas. El uso actual amplía el significado de espectroscopía para incluir estudios con otros tipos de radiación con iones (espectroscopía de masas), Electrones (espectroscopía de electrones) y ondas de sonido ((espectroscopía acústica).

Tabla 1 Métodos espectroscópicos generales basados en la radiación electromagnética

TIPO DE ESPECTROSCOPIA	INTERVALO HABITUAL DE LONGITUD DE ONDA	INTERVALO HABITUAL DE NUMERO DE ONDA (cm ⁻¹)	TIPO DE TRANSICIÓN CUANTICA
Emisión de rayos gamma	0,005 – 1,4 Å	Nuclear
Absorción, emisión, fluorescencia, difracción de rayos x	0,1 - 100 Å	Electrones internos
Absorción ultravioleta de vacío	10 – 180 nm	1x10 ⁶ a 5x10 ⁴	Electrones de enlace
Absorción, emisión y fluorescencia ultravioleta visible	180 – 780 nm	5x10 ⁴ a 1,3x10 ⁴	Electrones de enlace
Absorción y dispersión Raman infrarroja	0,7 – 300 µm	1,3x10 ⁴ a 3,3x10 ¹	Rotación / vibración de moléculas
Absorción de microondas	0,75 – 3,75 mm	13 – 27	Rotación de moléculas
Resonancia de espín electrónico	3 cm	0,33	Espín de los electrones en un campo magnético
Resonancia magnética nuclear	0,6 – 10 m	1,7x10 ⁻² a 1x10 ³	Espín de los núcleos en un campo magnético

Fuente: (Skoog, Holler, & Crouch, 2008)

2.2.1.4. Absorción de la Radiación

Cuando la radiación pasa a través de una capa de un sólido, un líquido o un gas, ciertas frecuencias pueden eliminarse selectivamente por absorción, un proceso en el que la energía electromagnética se transfiere a los átomos, iones o moléculas constitutivas de la muestra. La absorción promueve a estas partículas desde su estado normal a temperatura ambiente, o estado fundamental, a uno o varios estados excitados de energía más elevada.

Según la teoría cuántica, los átomos, moléculas o iones sólo tienen un número limitado de niveles de energía discretos, y por tanto, para que se produzca la absorción de la radiación, la energía de los fotones excitadores debe coincidir exactamente con la diferencia de las energías entre el estado fundamental y uno de los estados excitados de las especies absorbentes, ya que estas diferencias de energías son únicas para cada especie.

El estudio de las frecuencias de la radiación absorbida proporciona un medio para caracterizar a los constituyentes de una muestra de materia. Con este fin, se representa la absorbancia¹ en función de la longitud de onda o de la frecuencia. Algunos espectros de absorción típicos se muestran en la Figura 3.

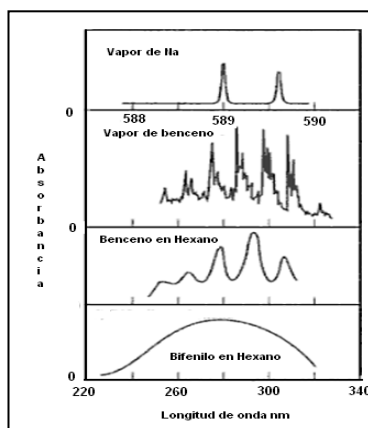


FIGURA 3 Algunos espectros de absorción ultravioleta característicos.

Fuente: (Skoog, Holler, & Crouch, 2008)

El examen de las cuatro gráficas pone de manifiesto que la apariencia de los espectros de absorción varía ampliamente, algunos poseen numerosos picos agudos, mientras que otros consisten en suaves curvas continuas. En general, la naturaleza del espectro viene influida por variables como la complejidad, el estado físico y el entorno de las especies absorbentes. Sin embargo, las diferencias entre los espectros de absorción de los átomos y las moléculas son más profundas.

2.2.1.4.1. Métodos basados en la absorción.

Los métodos cuantitativos basados en la absorción requieren dos medidas de potencia: una, antes de que el haz haya pasado a través del medio que contiene al analito (P_o), y la otra, después (P). La transmitancia y la absorbancia son los términos que se utilizan ampliamente en la espectrometría de absorción y se relaciona por la razón de P_o y P .

¹ La absorbancia, una medida de la disminución de la potencia radiante.

2.2.1.4.1.1. Transmitancia

En la Figura 4 muestra un haz de radiación paralelo antes y después de atravesar un medio que tiene un espesor de b cm y una concentración c de una especie absorbente. Como consecuencia de las interacciones entre los fotones y los átomos o moléculas absorbentes, la potencia del haz disminuye.

La transmitancia T del medio es la fracción de radiación incidente transmitida por el medio. La transmitancia se expresa con frecuencia como porcentaje.

$$T = \frac{P}{P_o} \quad \Rightarrow \quad \%T = \frac{P}{P_o} \times 100$$

Ecuación 1

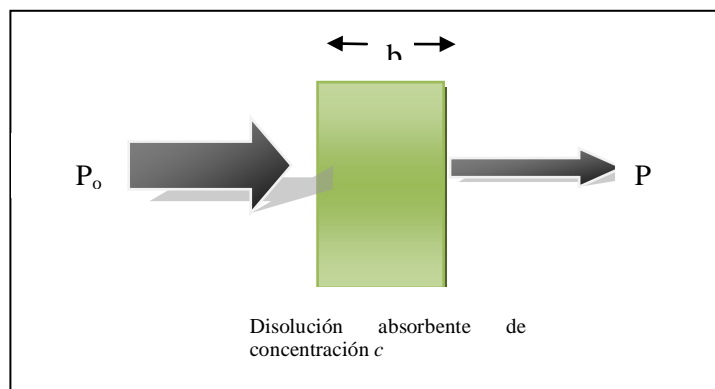


FIGURA 4 Atenuación de un haz de radiación por una disolución absorbente

Elaborado por: Mayra Vásquez

2.2.1.4.1.2. Absorbancia.

La Absorbancia A de una solución se relaciona con la transmitancia de una manera logarítmica observándose que se reduce la transmitancia a medida que aumenta la absorbancia de la solución, esta se define por la siguiente ecuación:

$$A = -\log_{10} T = \log \frac{P_o}{P} \quad \text{Ecuación 2}$$

2.2.1.4.2. Ley de Beer

Esta ley expresa, que cuando un haz de luz atraviesa un medio absorbente de espesor constante, la cantidad de energía luminosa absorbida por el medio varía en forma directamente proporcional a la concentración del absorbente en el medio, definiéndose mediante la siguiente ecuación:

$$A = kC \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde C es la concentración del analito, A la absorbancia obtenida y k es una constante.

En absorción atómica, por lo general la ley de Beer se aplica mediante una regresión lineal, por lo tanto la relación entre concentración y absorbancia está dada por:

$$A = mC + b \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde: m es la pendiente de la curva de regresión y b es el intercepto en el eje de las ordenadas.

La absorbancia de una solución es directamente proporcional a su concentración, a mayor número de moléculas mayor interacción de la luz con ellas; también depende de la distancia que recorre la luz por la solución, a igual concentración, cuanto mayor distancia recorre la luz por la muestra más moléculas se encontrará; y por último, depende de ϵ , una constante de proporcionalidad denominada coeficiente de extinción que es específica de cada cromóforo.

Como A es adimensional, las dimensiones de ϵ dependen de las de C y l. La segunda magnitud (l) se expresa siempre en cm mientras que la primera (C) se hace, siempre que sea posible, en molaridad M, con lo que las dimensiones de ϵ resultan ser $M^{-1} \cdot cm^{-1}$.

La ley de Lambert-Beer se cumple para soluciones diluidas; para valores de C altos, ϵ varía con la concentración, debido a fenómenos de dispersión de la luz, agregación de moléculas, cambios del medio, etc.

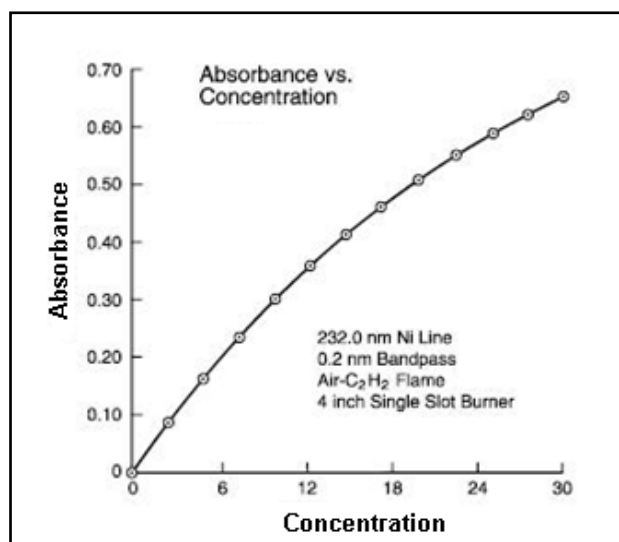


FIGURA 5 Relación de Absorbancia vs. Concentración

Fuente: Analytical Methods for Atomic Absorption Spectroscopy
The Perkin-Elmer Corporation

2.2.1.4.2.1. Limitaciones de la Ley de Beer

Se ha encontrado pocas excepciones a la de acuerdo a que la absorbancia está relacionada linealmente con el camino óptico.

Con frecuencia se ha encontrado desviaciones de la proporcionalidad entre la medida de la absorbancia y la concentración cuando b es constante. En algunas ocasiones estas desviaciones están relacionadas con el fundamento de la ley y representa limitaciones propias de la misma.

Otras veces surgen como consecuencia de la forma en que realizan las mediciones de absorbancia o como resultado de cambios químicos asociados con cambios de concentración; las dos últimas son conocidas a veces como desviaciones instrumentales y desviaciones químicas, respectivamente.

A concentraciones altas (generalmente $> 0,01 \text{ M}$), la distancia media entre las moléculas responsables de la absorción disminuye hasta el punto en que cada molécula altera la distribución de carga de las moléculas vecinas.

Esta interacción, puede alterar la capacidad de las moléculas para absorber la radiación de una determinada longitud de onda. Como la magnitud de interacción depende de la concentración, la aparición de este fenómeno da lugar a desviaciones de la linealidad entre la absorbancia y la concentración.

También surgen desviaciones de la ley de Beer como consecuencia de la dependencia de ϵ con el índice de refracción del medio. Por ello, si los cambios de la concentración causan alteraciones significativas en el índice de refracción n de una disolución, se observan desviaciones de la ley de Beer.

2.2.1.5. Espectroscopía de Absorción Atómica

La absorción atómica es el proceso que ocurre cuando átomos de un elemento en estado fundamental absorben energía radiante a una longitud de onda específica. La cantidad de radiación absorbida aumenta al hacerlo el número de átomos del elemento presentes en el camino óptico, utilizándose esto con fines analíticos cuantitativos.

La técnica permite la determinación de, al menos, unos 70 elementos en cantidades tan bajas como 10^{-14} g con razonable selectividad, pequeña manipulación y mínimo tamaño de muestra.

Aunque inicialmente se utilizó solo para la determinación de elementos metálicos, se han desarrollado métodos indirectos que permiten la cuantificación de una gran variedad de aniones y de compuestos orgánicos.

En la práctica, las muestras se vaporizan y se convierten en átomos libres, proceso denominado atomización. Sobre el vapor atómico originado se hace incidir la radiación electromagnética que será absorbida parcialmente por el analito.

El espectro de absorción atómica de muchos elementos se origina por transiciones electrónicas desde el estado fundamental a estados excitados.

2.2.1.6. Elementos de un Espectrómetro de Absorción Atómica

Hay cinco elementos básicos en un instrumento de absorción atómica (Figura 6):

- **Fuente de luz.-** que emite el espectro del elemento de interés, en este caso se utilizará una lámpara de cátodo hueco, este tipo de fuente de radiación es de las ampliamente difundidas en la EAA. Las lámparas de cátodo hueco (LCH o HCL [Hollow Cathode Lamp]) consisten de un cilindro de vidrio sellado al vacío y con un gas inerte en su interior.

- Dentro de este mismo cilindro se encuentran dos filamentos; uno de ellos es el cátodo y el otro el ánodo. El ánodo generalmente es un alambre grueso hecho de níquel o tungsteno, el cátodo es en forma de un cilindro hueco, en el interior del cual se encuentra depositado en forma de una capa el elemento metálico que se va a excitar.
- **Celda de absorción.-** en donde átomos de la muestra son producidos (flama, horno, etc.)
- **Monocromador.-** (selector de longitud de onda), tiene como finalidad controlar la “pureza” de la radiación emitida consiguiendo el menor ancho de banda de longitud de onda posible, consta de un conjunto de lentes, espejos y ranuras para dispersar, separar, enfocar y restringir la radiación no deseada.
- **Detector.-** el cual mide la intensidad de la luz e intensifica la señal.
- **Pantalla.-** que muestra la lectura después que ha sido procesada.

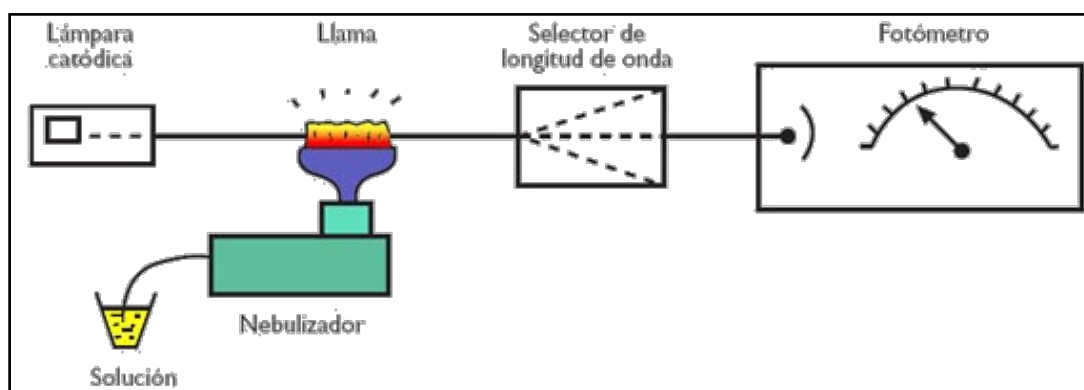


FIGURA 6 Componentes básicos de un espectrofotómetro de absorción atómica.
Fuente: (PANREAC, 2007)

2.2.1.7. Etapas del Proceso de Atomización

Las etapas que deben seguir los átomos del analito desde la disolución inicial hasta llegar a transformarse en vapor atómico son comunes para todos los métodos que utilizan llama. En la Figura 7, se muestra una serie compleja de procesos encadenados que tienen lugar en la llama.

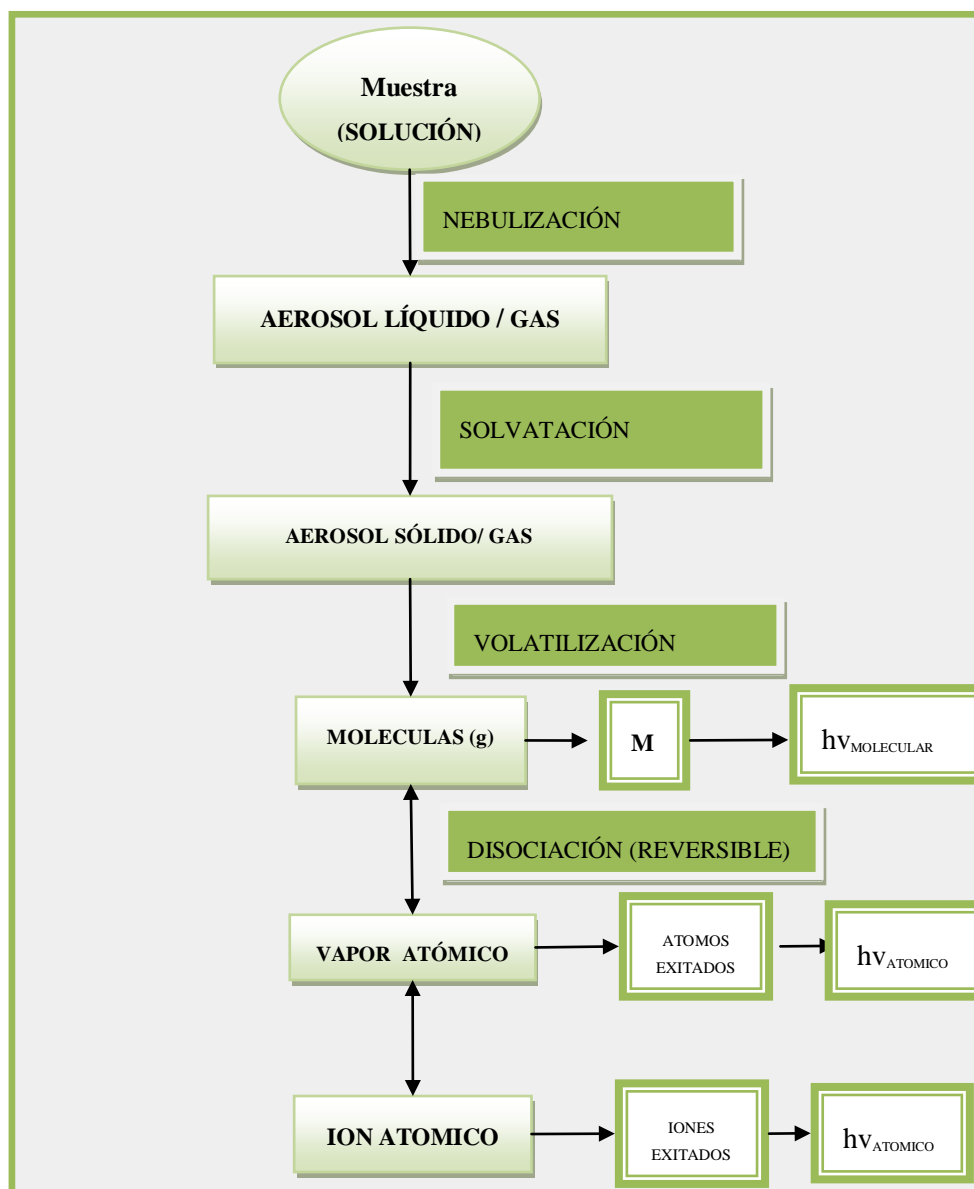


FIGURA 7 Etapas del Proceso de Atomización del metal

Fuente: (Skoog, Holler, & Crouch, 2008)

En un atomizador de llama, la disolución de la muestra es nebulizada mediante un flujo de gas oxidante, mezclado con el gas combustible y se transporta a una llama donde se produce la atomización. El primero es la desolvatación, en el que se evapora el disolvente hasta producir un aerosol molecular solido finamente dividido. Luego la disociación de la mayoría de estas moléculas produce un gas atómico.

La mayoría de los átomos así formados se ionizan originando cationes y electrones. Indudablemente se producen también otras moléculas y átomos en la llama como resultado de las interacciones del gas combustible con el gas oxidante y con las distintas especies de la muestra. (Skoog, Holler, & Crouch, 2008)

2.2.1.8. Métodos de Medición por Espectrometría de Absorción Atómica

Se han desarrollado métodos directos para la determinación de más de 60 elementos en las más variadas muestras: rocas, suelos, aguas, vegetales, muestras biológicas, productos petrolíferos, metales y aleaciones, combustibles nucleares, productos farmacéuticos, vinos, etc.

La técnica es particularmente apropiada para la determinación de trazas de metales en muestras biológicas y medioambientales. También es de utilidad cuando la muestra contiene un nivel elevado del elemento metálico, pero solo se cuenta con una cantidad de muestra muy pequeña para realizar el análisis, como, por ejemplo, en las metal-proteínas.

Los fluidos biológicos, sangre y orina, pueden, con frecuencia, ser introducidos directamente en la llama después de una simple dilución. Para el análisis de sangre suele utilizarse suero o plasma (suero con anticoagulante, como heparina u oxalato), ya que en esta fracción están contenidos los elementos metálicos en concentraciones significativas desde el punto de vista clínico².

En ocasiones, el metal puede estar más concentrado en los glóbulos rojos, pero los cambios de concentración en el suero o plasma tienen mayor significación clínica. Tal es el caso del potasio, cinc, magnesio, hierro. En estos casos es fundamental que la muestra de sangre no sufra hemólisis (rotura de los glóbulos rojos) antes de que se complete la separación del suero o plasma.

Cuando se requiere la destrucción de la materia orgánica, ésta puede llevarse a cabo por calcinación en seco, o por vía húmeda. La calcinación en seco puede originar pérdidas por volatilización, por lo que suele preferirse la digestión por vía húmeda. Una mezcla muy eficaz para muestras biológicas es la formada por $\text{HNO}_3\text{:H}_2\text{SO}_4\text{:HClO}_4$ en la proporción 3:1:1 en volumen, usando 1 mililitro por gramo de muestra.

Las muestras metálicas y las aleaciones suelen disolverse en ácidos minerales, mientras que las muestras biológicas o materiales orgánicos requieren fusión ácida o alcalina. En cualquier caso, es importante, como ya se ha mencionado, que la matriz de los patrones se aproxime a la de la muestra, o si no, diluir la muestra para minimizar los efectos de matriz.

Un tipo especial de determinaciones directas son las basadas en la volatilización del elemento o algún derivado. Ello implica la separación del analito por volatilización a temperatura ambiente o a temperatura elevada, en forma de átomos libres o algún compuesto volátil.

² Una excepción se da en los casos de envenenamiento por plomo, pues éste está concentrado en los glóbulos rojos.

Por esta técnica es posible medir concentraciones muy bajas, pues las especies volatilizadas pueden recogerse a partir de un gran volumen de disolución, en la que queda la matriz y las sustancias interferentes. Dentro de este tipo de determinaciones, las más utilizadas son la técnica del vapor frío para el mercurio y la técnica de generación de hidruros.

2.2.1.8.1. Espectrometría de Absorción Atómica de Llama (FAAS)

La técnica de absorción atómica en flama en una forma concisa consta de lo siguiente:

- ✓ La muestra en forma líquida es aspirada a través de un tubo capilar y conducida a un nebulizador donde ésta se desintegra y forma un rocío o pequeñas gotas de líquido.
- ✓ Las gotas formadas son conducidas a la flama, donde se produce una serie de eventos que originan la formación de átomos. Estos átomos absorben la radiación emitida por la lámpara y la cantidad de radiación absorbida está en función de su concentración.
- ✓ La señal de la lámpara una vez que pasa por la flama llega al monocromador, que tiene como finalidad el discriminar todas las señales que acompañan la línea de interés. Esta señal de radiación electromagnética llega al detector o transductor y pasa a un amplificador y por último a un sistema de lectura.
- ✓ La flama es el resultado del proceso de combustión, en el cual se identifican dos elementos: el combustible y el oxidante, en el caso del método de aire – acetileno, el primero tiene las funciones de oxidante mientras que el acetileno sirve como combustible; en el método de óxido nítrico – acetileno, el óxido es el oxidante.

Mientras que la mayoría de las técnicas espectroscópicas se utilizan para el estudio y caracterización de moléculas o iones en su entorno cristalino, la espectrometría de absorción atómica se usa casi para el análisis de átomos. Por consiguiente, la técnica resulta casi insuperable como método de análisis elemental de metales.



FIGURA 8 Espectrofotometro de Absorción Atómica de Llama
Fuente: (PANREAC, 2007)

2.2.1.8.2. Espectrometría de absorción atómica por vapor frío (CV AAS)

Los átomos de los elementos analizados con Absorción Atómica no pueden existir como átomos libres y en su estado fundamental a temperatura ambiente, por lo cual deben ser calentados para romper los enlaces que los mantienen en forma de moléculas.

La única excepción notable a esto es el mercurio. Los átomos libres de mercurio pueden existir a temperatura ambiente, por lo tanto el mercurio puede ser medido por absorción atómica sin calentar la celda.

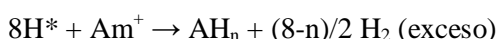
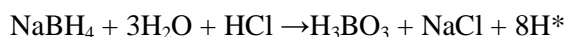
La técnica del vapor frío es usada para la determinación de mercurio. Dependiendo de la forma en la que este está presente en la muestra. La muestra es tratada químicamente (digestada) para llevar al mercurio al estado de ión en una solución ácida. Un reductor colocado en la muestra reduce al mercurio a estado metálico. Desde que el mercurio adquiere una volatilidad apreciable, aun en temperatura ambiente, el vapor de mercurio metálico puede ser conducido de la solución, por el vapor de un gas inerte, al atomizador de tubo de cuarzo (QTA), donde la absorción atómica es medida. Los reductores que son usados comúnmente en la técnica del vapor frío son el Borohidruro de sodio (NaBH_4) y el SnCl_2 . En este estudio, se utilizó como reductor NaBH_4 .

El mercurio volátil es conducido del frasco de reacción haciendo pasar argón a través de la solución. Los átomos de mercurio son conducidos en el flujo de gas a través del tubo conectado a la celda de absorción, la cual es colocada en el paso de luz del espectrómetro de absorción atómica.

Algunas veces la celda es calentada un poco para evitar la condensación del agua pero de otra forma la celda permanece completamente sin calentar.

2.2.1.8.3. Espectrometría de absorción atómica con generación de hidruros (HG-AAS)

La técnica de GH-AAS consta de tres etapas fundamentales: la generación y volatilización del hidruro, la transferencia del mismo y su posterior atomización en el espectrómetro de Absorción Atómica. La generación del hidruro se consigue tratando la muestra que contiene arsénico o selenio con una disolución de Borohidruro de sodio (NaBH_4) en medio ácido (HNO_3).



Donde H^* es el hidrógeno nascente, "A" es el elemento formador de hidruro y "m" su estado de oxidación.

Si bien, el reductor utilizado universalmente es el Borohidruro de sodio, la reacción es completa y rápida cuando se trata de la especie inorgánica As (III), en el caso de As (V) y las especies orgánicas Monometilarsénico (MMA) y Dimetilarsénico (DMA), la reacción es muy lenta por lo que es necesaria una reducción previa, para lo cual se utiliza yoduro de potasio o L-cisteína.

Los productos gaseosos son llevados a la celda de muestreo en el paso de la luz del espectrómetro de absorción atómica.

Al contrario de la técnica del mercurio, los productos gaseosos no son átomos libres del analito sino hidruros volátiles. Estas especies moleculares no son capaces de causar absorción atómica. Para disociar el gas de los hidruros en átomos libres, la celda de muestreo debe ser calentada.

2.2.1.8.4. Espectrometría de absorción atómica electrotérmica.

Aunque el empleo de llamas es extremadamente útil y conveniente en absorción atómica, su inherente baja eficacia de atomización impone ciertas limitaciones en el uso de las técnicas que las utilizan. La necesidad de superar estas y otras limitaciones ha provocado el desarrollo de métodos sin llama con el fin de generar la población necesaria de átomos libres.

Tales métodos incluyen la utilización de arco eléctrico, láser, plasmas y microondas de alta frecuencia, filamentos y bandas atomizadoras, así como hornos de alta temperatura. Esta última modalidad es la más empleada, y la que se tratará aquí.

Al comienzo del siglo, King, en 1905, volatilizó muestras para llevar a cabo estudios espectroscópicos por medio de un horno de grafito calentado eléctricamente. Sin embargo, hasta la llegada de la cubeta de L'vov (1969) esta técnica del horno no se aplicó con éxito en análisis cuantitativo por absorción atómica. Su dispositivo (Figura 9) estaba constituido por un tubo de grafito de unos 10 cm de longitud, 10 mm de diámetro externo y 3 mm de diámetro interno, recubierto internamente con una lámina de tántalo o volframio para eliminar la difusión del vapor a través de las paredes porosas del grafito.

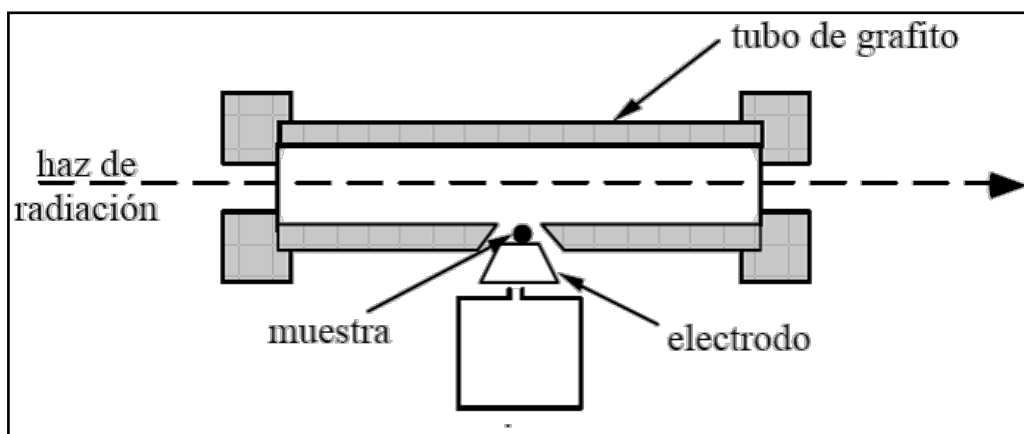


FIGURA 9 Cubeta de L'vov.

FUENTE: (BEATY, 1993)

La muestra se coloca sobre un electrodo de carbón, se seca y se introduce en el tubo de grafito, el cual se calienta eléctricamente mediante una corriente eléctrica, con lo cual se produce la vaporización y atomización de la muestra.

Actualmente se utilizan hornos de temperatura programada, cuyo diseño básico se muestra en la Figura 10 el elemento atomizador es un tubo de grafito abierto por ambos extremos y que tiene un orificio central para introducir la muestra mediante una micro-pipeta. El tubo de grafito (intercambiable) se ajusta a un par de contactos eléctricos situados en sus extremos. Estos contactos se mantienen en una caja enfriada por agua, y por aplicación de una diferencia de potencial entre los electrodos, se va aumentando la temperatura del horno.

Mientras se va calentando el atomizador, está pasando una corriente de gas inerte (nitrógeno o argón) para prevenir la oxidación y desalojar los vapores del horno.

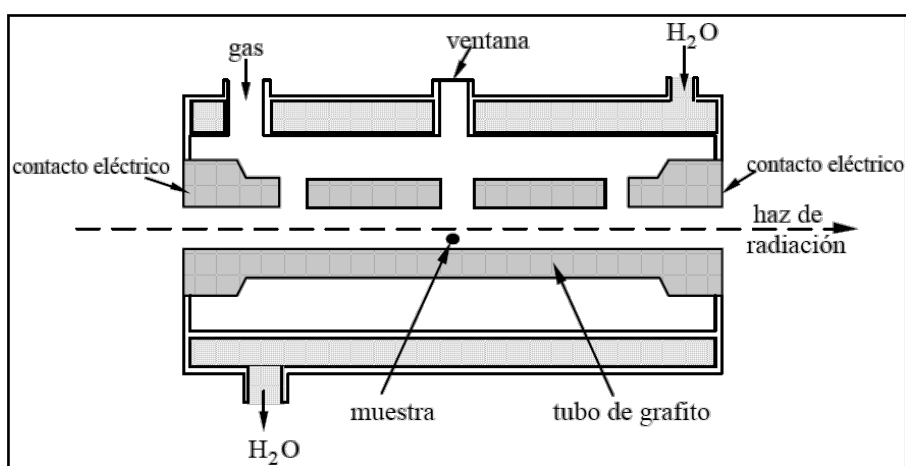


FIGURA 10 Horno de grafito.

FUENTE: (BEATY, 1993)

El proceso de calefacción transcurre en tres etapas (Figura 11).

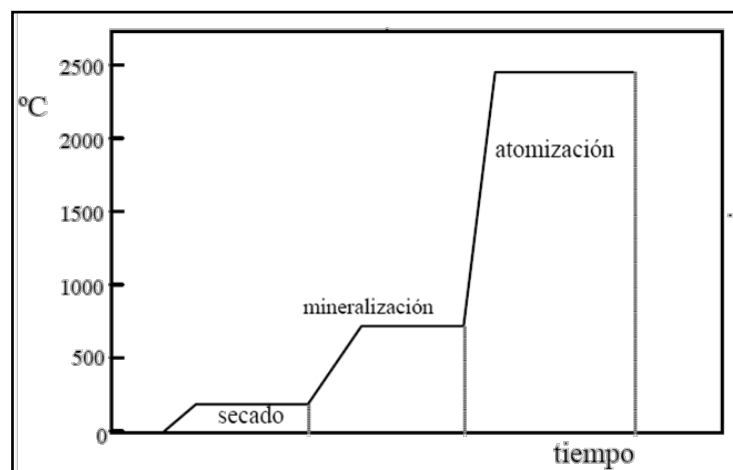


FIGURA 11 Programa de temperaturas en el horno de grafito.

FUENTE: (BEATY, 1993)

Durante la etapa de secado tiene lugar la eliminación del disolvente, mientras que la etapa de mineralización tiene como objetivo eliminar, en lo posible, aquellas especies no deseadas, como, por ejemplo, la materia orgánica.

Durante el ciclo de atomización se alcanza una temperatura lo suficientemente alta para volatilizar el residuo sólido obtenido en la etapa anterior, y formar el correspondiente vapor atómico.

La temperatura exacta y la duración de cada etapa, depende de la naturaleza del analito. En general, los procesos de secado y mineralización transcurren lentamente, mientras que la temperatura para la atomización hay que alcanzarla con gran rapidez.

2.2.1.8.4.1. Naturaleza de la señal de absorción

En contraste con los métodos que utilizan llama, en los que se obtiene una señal continua, las señales generadas por atomización electrotrémica son discontinuas. Esta diferencia está relacionada con la naturaleza del proceso de atomización.

En la llama, mientras la muestra está siendo aspirada, la población atómica se mantiene constante, mientras que en el horno de grafito, la alícuota de muestra introducida se atomiza totalmente en pocos segundos, o incluso en milisegundos. En consecuencia, la absorción en la llama está directamente relacionada con la concentración de analito en la disolución problema, mientras que en el horno de grafito, la absorción depende de la cantidad total de analito introducido, y no de la concentración de la muestra original.

El método más utilizado para medir las señales originadas por atomización electrotrémica es medir la altura del pico de absorción obtenido, si bien, también puede llevarse a cabo la medida del área correspondiente.

2.2.1.8.5. Comparación entre atomización electrotrémica y por llama

La atomización electrotrémica presenta toda una serie de ventajas e inconvenientes respecto a la utilización de llama, entre las que pueden citarse:

- **Ventajas**
 - ✓ **Sensibilidad elevada.-** Se debe fundamentalmente a la alta eficacia del proceso de atomización (se atomiza la totalidad de la muestra). Teóricamente, el incremento en la sensibilidad debería ser del orden de 10^5 , aunque en la práctica es bastante menor (Tabla 2)

Tabla 2 Límites de detección ($\mu\text{g/L}$) en llama y con horno de grafito

Elemento	Horno	Llama	Llama/horno
Ag	0.02	1.5	75
Al	0.1	45	450
Ba	0.4	15	38
Cd	0.008	0.8	100
Cu	0.1	1.5	15
Fe	0.1	5	50
Mn	0.04	1.5	38
Pb	0.06	15	250
Zn	0.1	1.5	15

Fuente: (Gonzales Perez, 2008)

Debido a la gran sensibilidad que se obtiene para muchos elementos, hay que tomar toda una serie de precauciones en cuanto a la pureza de los reactivos a emplear, incluido el agua. Para análisis de ultra-trazas hay que trabajar en "atmósferas limpias".

En la Figura 12 se muestran de forma aproximada los márgenes más típicos para los límites de detección de la absorción atómica con llama, horno de grafito y generación de hidruros.

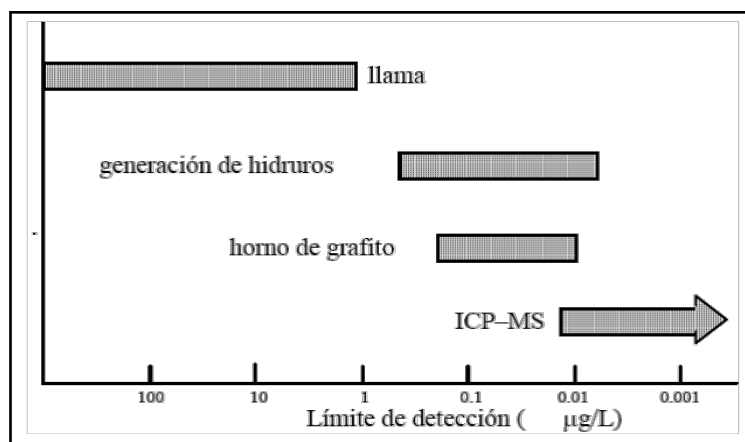


FIGURA 12 Márgenes aproximados de límites de detección.

- ✓ **Volúmenes de muestra pequeños.**- En general, se utilizan volúmenes comprendidos entre 0.5 y 10 µl. Esto es ventajoso cuando se dispone de muestras pequeñas, lo cual es interesante en análisis medioambiental, forense o clínico, pero puede ser un inconveniente cuando se trate de muestras heterogéneas.
- ✓ **Tratamiento de la muestra "in situ".**- La destrucción de la materia orgánica, junto con la posibilidad de analizar directamente líquidos viscosos e incluso sólidos, son ventajas importantes de este sistema de atomización.
- **Desventajas**
 - ✓ **Menos reproducibilidad.**- La precisión de los métodos sin llama se encuentra normalmente en el intervalo del 5 al 10 %, frente al 1 % o menos que puede obtenerse al operar con llama.
 - ✓ **Interferencias.**- Son, posiblemente, uno de los mayores problemas de los atomizadores electrotrémicos. Pueden ser de los tipos siguientes:
 - **Señales de fondo.**- Cuando se produce una gran concentración de la matriz vaporizada durante la atomización puede tener lugar la dispersión del haz incidente o la absorción por especies moleculares vaporizadas.

- **Efectos de memoria.-** La atomización incompleta de un elemento realiza la siguiente determinación, al acumularse en el atomizador. Esto se produce con frecuencia en aquellos elementos que forman óxidos refractarios, como vanadio, molibdeno o wolframio. Los efectos de memoria se reducen utilizando altas temperaturas de atomización o tiempos altos.
 - **Pérdidas por pirolisis.-** Ocurren cuando el elemento está presente en la matriz en una forma significativamente volátil a la temperatura de mineralización, o cuando se transforma en una especie volátil por efecto de la matriz.
 - **Formación de carburos.-** La formación de carburos metálicos puede influir sobre la cinética del proceso de atomización. De hecho, para algunos elementos, las señales analíticas son muy dependientes del estado físico de la superficie del atomizador.
- ✓ El tiempo necesario para el análisis es mayor que con llama, y no puede aplicarse a todos los elementos.
 - ✓ Finalmente, cabe mencionar también como desventajas el pequeño intervalo analítico, que suele ser menor de dos órdenes de magnitud, y el precio, por la necesidad de renovar periódicamente el tubo de grafito.

2.2.2. VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

2.2.2.1. Definición de la validación

En la norma internacional ISO/IEC 17025 (2005), la validación se encuentra definida como “la confirmación, a través del examen y el aporte de evidencias objetivas, que cumplan los requisitos particulares para uso específico previsto”. (L&S Consultores C.A., 2003)

Aplicando el concepto de validación al ensayo podemos definir que la validación de un método de ensayo es el proceso que establece, mediante amplios estudios de laboratorio, que los parámetros de calidad de desempeño del método de ensayo cumplen las especificaciones relacionadas con el uso previsto de los resultados del ensayo.

El laboratorio debe confirmar que puede aplicar correctamente el método normalizado previo a su uso en ensayos o calibraciones. Cualquier variación en el método normalizado implica la repetición de dicha confirmación. Para el caso de metodologías de ensayo o de calibración desarrolladas por el laboratorio los métodos deben ser adecuados y totalmente validados antes de su uso.

2.2.2.1.1. Objetivos de la validación

La validación tiene como objetivo demostrar que un método es apto para un fin, al definir sus características y limitaciones, mediante el abastecimiento de evidencia objetiva. (CYTED, 2009)

Además tiene como objetivo:

- Evaluar las características de desempeño del método.
- Demostrar que el método desarrollado por un laboratorio es útil para la aplicación propuesta.
- Demostrar que las modificaciones realizadas a un método no afectan su desempeño, obteniendo resultados confiables.
- Demostrar que un método es equivalente a otro.
- Los métodos deben validarse:
 - ✓ Antes de introducirlos como métodos de rutina.
 - ✓ Un método establecido es usado en un laboratorio diferente o con diferentes analistas o instrumentos.
 - ✓ Cuando:
 - Cambia alguna de sus condiciones, por ejemplo: cambio en la técnica de extracción.
 - Se desarrolla un nuevo método para un problema particular.
 - Se revisa un método establecido para incorporar mejoras o ampliarlo hacia un nuevo problema, por ejemplo, cambio de matriz.
 - Se debe demostrar la equivalencia entre dos métodos. (Cortés Colín, 2008)

2.2.2.1.2. Importancia de la validación.

El laboratorio debe validar métodos no normalizados, métodos diseñados/ desarrollados por el laboratorio, métodos normalizados usados fuera de su alcance propuesto y ampliaciones y modificaciones de métodos normalizados para confirmar que los métodos se ajustan al uso propuesto. La validación debe ser tan extensiva como sea necesario para satisfacer las necesidades de la aplicación o del campo de aplicación dado.

El laboratorio debe registrar los resultados obtenidos, el procedimiento usado para la validación, y una declaración acerca de que el método se ajusta para el uso propuesto.

El intervalo y la exactitud de los valores que se pueden obtener de los métodos validados (p. Ej. La incertidumbre de los resultados, el límite de detección, la selectividad del método, la linealidad, el límite de repetibilidad y/o reproducibilidad, la consistencia contra influencias externas y/o la sensibilidad cruzada contra interferencias de la matriz del elemento de ensayo/muestra), deben ser relevantes con las necesidades de los clientes, como se evaluaron para el uso propuesto.

2.2.2.2. Parámetros de validación de un método analítico

2.2.2.2.1. Exactitud

Se define como la concordancia entre el resultado de un ensayo y el valor de referencia aceptado como convencionalmente verdadero.

Las metodologías habitualmente utilizadas para evaluarla son, entre otras:

- uso de materiales de referencia
- participación en comparaciones interlaboratorios
- realización de ensayo de recuperación.

La exactitud, cuando se aplica a una serie de resultados de ensayo, implica una combinación de componentes de errores aleatorios y sistemáticos.

La exactitud se cuantifica con el sesgo que se define como la diferencia entre el valor más probable y el valor experimental.

La determinación del sesgo con relación a los valores de referencia apropiados es importante en el establecimiento de la trazabilidad a los patrones reconocidos. Una forma de evaluar la exactitud del método es por medio del cálculo del error relativo, expresado en porcentaje.

2.2.2.2.2. Precisión

Precisión es un término general para evaluar la dispersión de resultados entre ensayos independientes, que son repetidos sobre una misma muestra, muestras semejantes o patrones, en condiciones definidas. Habitualmente se determina para circunstancias específicas de ensayo. En general se estudia mediante la repetibilidad, la reproducibilidad y la precisión intermedia, siendo usualmente expresadas por la desviación estándar.

Tanto la repetibilidad como la reproducibilidad son, generalmente, dependientes de la concentración del mensurando y, de este modo, deberían ser determinadas para diferentes concentraciones. En algunos casos debe establecerse la relación entre la precisión y la concentración del mensurando.

- **La repetibilidad.-** es el grado de concordancia entre los resultados de mediciones sucesivas de un mismo mensurando, efectuadas bajo las mismas condiciones de ensayo, las cuales son:
 - ✓ mismo procedimiento de ensayo.
 - ✓ mismo operador.
 - ✓ mismo equipo usado bajo las mismas condiciones.
 - ✓ mismo local.
 - ✓ repeticiones efectuadas en un corto intervalo de tiempo.

La repetibilidad puede ser expresada cuantitativamente en términos de la característica de la dispersión de los resultados y puede ser determinada por medio del ensayo de patrones, material de referencia o adición a blanco en varias concentraciones en el intervalo de trabajo. Se sugieren 7 o más repeticiones para el cálculo de la desviación estándar para cada concentración, llamado desviación estándar de repetibilidad.

- **La reproducibilidad.-** es el grado de concordancia entre los resultados de las mediciones de un mismo mensurando, efectuadas bajo condiciones variadas de ensayo. Es considerada importante cuando un laboratorio busca la verificación del desempeño de sus métodos en relación a los datos de validación obtenidos por medio de comparación interlaboratorios.
- **La precisión (o reproducibilidad) intermedia.-** se refiere a la precisión evaluada sobre la misma muestra, muestras idénticas al patrón, utilizando el mismo método, en el mismo laboratorio, pero definido exactamente cuáles son las condiciones a variar (una o más), tales como:
 - ✓ Diferentes operadores
 - ✓ Diferentes equipos
 - ✓ Diferentes tiempos.

Esta medida de la precisión es reconocida como la más representativa de la variabilidad de los resultados en un laboratorio y, como tal, más aconsejable para ser usada.

Para determinar la precisión intermedia de un método, se efectúan mediciones por duplicado, o en ensayo único, sobre la muestra, en las condiciones predefinidas, pues existen varios métodos para estudiar este tipo de precisión. Cuando es aplicable, este procedimiento es repetido sobre otras muestras, abarcando otros niveles de concentración.

Un método simplificado para estimar la precisión intermedia se basa en la ejecución de n mediciones ($n \geq 15$), en condiciones predefinidas, sobre:

- ✓ Una misma muestra.
- ✓ Muestras presumiblemente idénticas.
- ✓ Patrones o materiales de referencia.

En la siguiente tabla, se presenta un resumen de la determinación de la repetibilidad, reproducibilidad y precisión intermedia.

2.2.2.2.3. Especificidad y selectividad

Una muestra, de manera general, está constituida por los mensurandos, la matriz y otros componentes que pueden tener algún efecto en la medición, pero que no se desea cuantificar. La especificidad y la selectividad están relacionadas con la detección. Un método que produce respuesta para un único mensurando es llamado específico. Un método que produce respuestas para varios mensurandos, pero que puede distinguir la respuesta de un mensurando de la de otros, es llamado selectivo.

Las diferentes metodologías para evaluar la especificidad y la selectividad tratan de responder a la pregunta: ¿lo que se mide es lo que se piensa que se mide?

Para poder diseñar la metodología de evaluación más apropiada es necesario comprender los diferentes mecanismos que causan interferencias cuando se determina el mensurando de interés. El método de ensayo puede tener diferentes desempeños debido a que los reactivos, la matriz u otros componentes alteran la sensibilidad del sensor que mide el mensurando de interés o porque estos componentes afectan directamente a la respuesta.

Al mismo tiempo pueden ocurrir errores constantes debido a interferencias y errores proporcionales debido al denominado efecto matriz.

Las metodologías empleadas para evaluar la especificidad y la selectividad son:

- ✓ Adición de patrón
- ✓ Ensayo de múltiples componentes o
- ✓ Cambios en el pretratamiento, la separación o la detección.

2.2.2.2.4. Linealidad

Es la capacidad de un método de ensayo de obtener resultados que sean directamente proporcionales a la concentración del mensurando dentro de un cierto intervalo de concentración.

La cuantificación requiere que se conozca la relación entre la respuesta y la concentración del mensurando.

La ecuación de la recta que relaciona a las dos variables es:

$$y = ax + b$$

Ecuación 5

Donde:

y = respuesta

x = concentración

a = pendiente de la curva de calibración

b = intersección con el eje y, cuando x = 0.

La linealidad de un método puede observarse por el gráfico de los resultados de los ensayos en función de la concentración del mensurando o puede calcularse a partir de la ecuación de la regresión lineal, determinada por el método de los mínimos cuadrados. El coeficiente de correlación lineal es frecuentemente usado para indicar cuanto puede ser considerada adecuada la recta como modelo matemático.

2.2.2.2.5. Rango de Trabajo

El rango validado es el intervalo de concentración del analito dentro del cual el método puede considerarse validado. Esto se refiere al intervalo de concentraciones o a los valores de la propiedad relacionada, de las disoluciones medidas realmente más que de las muestras originales.

En el extremo inferior del intervalo de concentración, los factores limitantes son los valores del límite de detección y/o cuantificación.

En el extremo superior del intervalo de concentración, las limitaciones serán impuestas por varios efectos que dependen del sistema de respuesta del instrumento.

2.2.2.2.6. Límite de detección

El límite de detección es un indicador del nivel de concentración para el cual existe suficiente confianza de que la señal observada se debe a la muestra y no al blanco.

Es un parámetro de mérito que nos proporciona información acerca de la presencia de un analito en una muestra dada. De hecho se lo define como la menor concentración de un analito que puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada, a un dado nivel de confianza (generalmente 95%). (Farías, 2007)

La Guía Eurachem define al límite de detección como: ‘El menor contenido de analito presente, que será detectado y que puede ser identificado.’

La ISO utiliza como un término general “valor mínimo detectable de la variable de estado definida” el cual en química se traduce como la “concentración neta mínima detectable”.

2.2.2.2.7. Límite de cuantificación

El Manual de Calidad define al Límite de cuantificación como “el contenido igual o mayor que el menor punto de concentración de la curva de calibración”

El límite de cuantificación (LoQ) estrictamente es la concentración más baja del analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de precisión, de repetibilidad y veracidad. También se define por diversas convenciones como la concentración del analito correspondiente al valor del blanco de muestra más 5, 6 ó 10 desviaciones estándar de la media del blanco. Algunas veces también se conoce como “límite de determinación”.

Es un parámetro que nos informa acerca de la menor cantidad de analito que puede ser determinada, en una muestra con un nivel de incertidumbre aceptable, a un dado nivel de confianza (generalmente 95%). (Farías, 2007)

2.2.2.2.8. Sensibilidad

Es una característica que demuestra la variación de la respuesta en función de la concentración del mensurando.

Puede ser expresada por la pendiente de la recta de regresión de calibración, y se determina simultáneamente con las metodologías para la evaluación de la linealidad.

La sensibilidad depende de la naturaleza del mensurando y de la técnica de detección utilizada

2.2.2.2.9. Robustez

La robustez evalúa la sensibilidad que el método de ensayo presenta a las pequeñas variaciones en las condiciones operativas. Un método se dice robusto si se revela prácticamente insensible a pequeñas variaciones que puedan ocurrir cuando éste está siendo ejecutado.

Para determinar la robustez de un método de ensayo, se puede recurrir al test de Youden. Se trata de un test que permite no sólo evaluar la robustez del método, sino también ordenar la influencia de cada una de las variaciones en los resultados finales, indicando cuál es el tipo de influencia de cada una de esas variaciones.

En La tabla 3 se presenta un ejemplo de los efectos de las modificaciones en diversos factores de influencia. Para esto se realiza 8 ensayos separados para determinar los efectos de la variación de las 7 diferentes etapas, en el método de ensayo. Las 8 mediciones pueden ser realizadas en un orden aleatorio.

Tabla 3 Variación en los factores para la determinación de la robustez

Factor	Nominal	Variación
Tiempo de agitación	10 min	12 min
Tamaño de muestra	5 g	10 g
Concentración ácida	1M	1,1M
Temperatura de calentamiento	100 °C	95°C
Tiempo de calentamiento	5 min	10 min
Agitación	Si	No
pH	6.0	6,5

Fuente: (EURACHEM, 2010)

2.2.2.2.10. Incertidumbre de los resultados

La incertidumbre caracteriza la dispersión de los valores atribuibles al mensurando, basándose en la información utilizada para obtener los resultados. (EURACHEM, 2010)

En el Anexo 1, se detallan los parámetros recomendados para la validación de los métodos espectrofotométricos, cromatográficos gravimétricos y volumétricos.

2.2.3. EL AGUA

2.2.3.1. Definición

El agua (del latín aqua) es una sustancia cuya molécula está formada por dos átomos de hidrógeno y uno de oxígeno (H₂O). Es esencial para la supervivencia de todas las formas conocidas de vida. El término agua, generalmente, se refiere a la sustancia en su estado líquido, pero la misma puede hallarse en su forma sólida llamada hielo, y en forma gaseosa denominada vapor.

El agua cubre el 71% de la superficie de la corteza terrestre. Se localiza principalmente en los océanos donde se concentra el 96,5% del agua total, los glaciares y casquetes polares poseen el 1,74%, los depósitos subterráneos (acuíferos), los permafrost y los glaciares continentales suponen el 1,72% y el restante 0,04% se reparte en orden decreciente entre lagos, humedad del suelo, atmósfera, embalses, ríos y seres vivos.

El agua es un elemento común del sistema solar, hecho confirmado en descubrimientos recientes. Puede ser encontrada, principalmente, en forma de hielo; de hecho, es el material base de los cometas y el vapor que compone sus colas. Desde el punto de vista físico, el agua circula constantemente en un ciclo de evaporación o transpiración (evapotranspiración), precipitación, y desplazamiento hacia el mar.

Se estima que aproximadamente el 70% del agua dulce es usada para agricultura. El agua en la industria absorbe una media del 20% del consumo mundial, empleándose en tareas de refrigeración, transporte y como disolvente de una gran variedad de sustancias químicas. El consumo doméstico absorbe el 10% restante.

El agua es esencial para la mayoría de las formas de vida conocidas por el hombre, incluida la humana. El acceso al agua potable se ha incrementado durante las últimas décadas en la superficie terrestre. Sin embargo estudios de la FAO, estiman que uno de cada cinco países en vías de desarrollo tendrá problemas de escasez de agua antes del 2030; en esos países es vital un menor gasto de agua en la agricultura modernizando los sistemas de riego.

2.2.3.2. Estructura del agua.

El agua es una sustancia que químicamente se formula como H₂O. Fue Henry Cavendish quien descubrió en 1781 que el agua es una sustancia compuesta y no un elemento, como se pensaba

desde la Antigüedad. Los resultados de dicho descubrimiento fueron desarrollados por Antoine Laurent de Lavoisier dando a conocer que el agua estaba formada por oxígeno e hidrógeno.

En 1804, el químico francés Joseph Louis Gay-Lussac y el naturalista y geógrafo alemán Alexander von Humboldt demostraron que el agua estaba formada por dos átomos de hidrógeno unidos a un átomo de Oxígeno por medio de dos enlaces covalentes. El ángulo entre los enlaces H-O-H es de $104'5''$. El oxígeno es más electronegativo que el hidrógeno y atrae con más fuerza a los electrones de cada enlace.

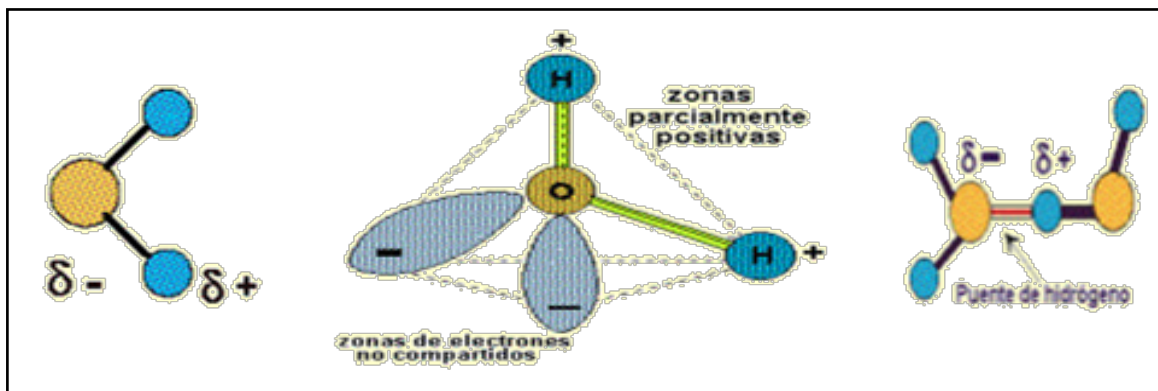


FIGURA 13 Estructura de la molécula del agua

El resultado es que la molécula de agua aunque tiene una carga total neutra (igual número de protones que de electrones), presenta una distribución asimétrica de sus electrones, lo que la convierte en una molécula polar, alrededor del oxígeno se concentra una densidad de carga negativa, mientras que los núcleos de hidrógeno quedan parcialmente desprovistos de sus electrones y manifiestan, por tanto, una densidad de carga positiva.

Por ello se dan interacciones dipolo-dipolo entre las propias moléculas de agua, formándose enlaces por puentes de hidrógeno, la carga parcial negativa del oxígeno de una molécula ejerce atracción electrostática sobre las cargas parciales positivas de los átomos de hidrógeno de otras moléculas adyacentes.

Aunque son uniones débiles, el hecho de que alrededor de cada molécula de agua se dispongan otras cuatro moléculas unidas por puentes de hidrógeno permite que se forme en el agua (líquida o sólida) una estructura de tipo reticular, responsable en gran parte de su comportamiento anómalo y de la peculiaridad de sus propiedades fisicoquímicas.

2.2.3.3. Clasificación del agua según su utilidad.

La clasificación del agua se la realiza con respecto a su origen ya que es el que va a determinar su composición.

Estas se clasifican en:

- **Agua no Potable:** Aquellas aguas cuyas condiciones físico-químicas ó caracteres microbiológicos ó de radiactividad, toxicidad impiden la inclusión en alguna de las aguas anteriores y estrictamente queda prohibida su distribución y su consumo. Existen unos niveles de parámetros representativos de carácter de calidad.
- **Agua Potable:** Aquellas aguas que reúnen las características contempladas en el art. 3 del R.T.S. (Reglamento técnico sanitario). La calidad del agua potable varía de un lugar a otro dependiendo de la condición de la fuente de agua de donde se obtiene y el tratamiento que la misma recibe. Para que el agua sea potable, es decir para que podamos consumirla, debe ser: limpia, pulcra, inodora, insípida, sin partículas que la hagan turbia; además debe tener minerales, tales como sodio, yodo, cloro, en las cantidades adecuadas. Para consumir el agua debemos potabilizarla es decir, sacarles las impurezas por medio de filtros sucesivos, luego deben eliminarse los microorganismos que pudieran existir con cloro y otros agentes purificadores, y se le somete a rigurosos análisis antes de liberarla al consumo.
- **Aguas Naturales:** Es el agua no pura, con disolución de gases, sales, suspensiones, diversos polvos, microbios, bromo, sodio, potasio, yodo, cloro, carbonatos, fosfatos, sulfatos, etc. Importante conocer el origen, condiciones físicas, químicas, microbiológicas, hasta el punto de que para poder ser utilizada el agua natural debe tener una serie de requisitos que la hacen tolerable. Existen una serie de parámetros que hacen que sea: agua conveniente, tolerable o no potable. Se consideran unas características físicas: olor, color, sabor, turbidez. También se consideran características fisicoquímicas: pH, residuo seco a 110°, Cl-, sulfatos, nitratos, Ca, Mg, Fe, Cu, V etc., oxígeno consumido por el permanganato. También hay márgenes microbiológicos: bacterias anaeróbicas, coliformes etc.

La composición de las aguas naturales es muy variable y también lo es su posible contaminación. Se clasifican en:

- ✓ Aguas meteóricas: lluvia, nieve, rocío
- ✓ Aguas superficiales: ríos, lagos
- ✓ Aguas profundas: manantiales, pozos

El origen del agua ya puede dar una idea de su composición química.

✓ **Aguas de lluvia.**

- Bajas en salinidad
- Ricas en gases: oxígeno, nitrógeno...
- Pueden llevar cierta carga microbiana por arrastre en la atmósfera.
- Aguas superficiales
- Salinidad variable, pues depende del terreno con el que esté en contacto

✓ **Aguas profundas**

- Gran salinidad
 - Apenas tienen materia orgánica
 - Apenas tienen microorganismos.
 - Son numerosos los elementos minerales que pueden encontrarse en el agua:
 - Metales: Na, K, Ca, Mg, Al, Fe
 - No metales: C, H, Si, Cl, S, O₂
- **Aguas Duras o Crudas:** Es la que no forma inmediatamente espuma con el jabón, por la presencia de compuestos de calcio, magnesio o hierro disueltos o en suspensión en el agua. Esta al ser bebida te dificulta la digestión.
 - **Aguas Blandas:** La que al contacto con el jabón forma espuma rápidamente.
 - **Aguas Minerales:** Es un compuesto químico especial que contiene una solución de sustancias minerales, usada en fines terapéuticos.
 - **Agua Pesada:** Es la que tiene sustituido el hidrógeno por el deuterio ó el tritio (que son isótopos del hidrógeno). Tiene una densidad de 1,1. Se emplea en pilas atómicas y en reactores nucleares como moderador de neutrones. Su fórmula química es D₂O. Este líquido se congela a los 3,8°C, hierve a los 101,42. Se obtiene por electrólisis del agua ordinaria alcalizada, usando electrodos de platino o níquel; se requieren grandes cantidades de agua y muchos Kw de electricidad para obtener unos pocos centímetros cúbicos de agua pesada. Dificulta el crecimiento de plantas, gusanos, peces y la germinación de las semillas
 - **Aguas Sanitariamente Permisibles:** Será aquella en la que alguno de sus caracteres físico-químicos sobrepasan los límites establecidos legalmente, salvo en los referente a productos tóxicos, radiactivos y contaminación fecal que no podrán sobrepasar en ningún caso los límites establecidos.
 - **Agua Magnética:** Es agua común sometida a un campo magnético intenso adquiriendo nuevas propiedades que se conservan durante horas: mejora los procesos de extracción de metales por flotación, disminuye los depósitos en las calderas de vapor y también los electrodomésticos aumenta la velocidad de las reacciones químicas, acelera el fraguado del cemento.

- **Poliagua:** (agua anómala) agua que está formada por una solución en agua de alguna o algunas sustancias volátiles que si se elimina transformando esta agua en hielo, el componente que se queda es lo que llaman POLIAGUA. En ambos casos los componentes que encontramos son: contaminantes orgánicos o inorgánicos, sustancias resultantes del ataque de la sílice.
- **Aguas Sacadas:** representan 97% del agua disponible y contiene grandes cantidades de sales disueltas lo que les hace impropias para uso humano.
- **El agua que unida directamente a las zonas activas de los principios inmediatos.** El agua que se encuentra en la superficie de las membranas celulares. El agua componente mayoritario de la solución compleja del medio.
- **Agua Endógena:** La que se produce en reacciones del interior de los organismos celulares y en plantas.
- **Aguas Dulces:** son fácilmente captadas, tiene una disponibilidad inmediata, que representan el 0'027% del volumen total y la mayor parte se encuentra en forma de hielo y su distribución es muy irregular
- **Aguas residuales:** “Las aguas residuales pueden definirse como las aguas que provienen del sistema de abastecimiento de agua de una población, después de haber sido modificadas por diversos usos en actividades domésticas, industriales y comunitarias.” Según su origen, las aguas residuales resultan de la combinación de líquidos y residuos sólidos transportados por el agua que proviene de residencias, oficinas, edificios comerciales e instituciones, junto con los residuos de las industrias y de actividades agrícolas, así como de las aguas subterráneas, superficiales o de precipitación que también pueden agregarse eventualmente al agua residual. (G.E.I.A. – U.T.N., 2009). En la tabla 4 se detalla los efectos que causan algunos contaminantes en las aguas residuales.

Así, de acuerdo con su origen, las aguas residuales pueden ser clasificadas como:

- ✓ **Domésticas:** son aquellas utilizadas con fines higiénicos (baños, cocinas, lavanderías, etc.). Consisten básicamente en residuos humanos que llegan a las redes de alcantarillado por medio de descargas de instalaciones hidráulicas de la edificación también en residuos originados en establecimientos comerciales, públicos y similares.
- ✓ **Industriales:** son líquidos generados en los procesos industriales. Poseen características específicas, dependiendo del tipo de industria.
- ✓ **Infiltración y caudal adicionales:** las aguas de infiltración penetran en el sistema de alcantarillado a través de los empalmes de las tuberías, paredes de las tuberías defectuosas, tuberías de inspección y limpieza, etc. Hay también

aguas pluviales, que son descargadas por medio de varias fuentes, como canales, drenajes y colectores de aguas de lluvias.

- ✓ **Pluviales:** son agua de lluvia, que descargan grandes cantidades de agua sobre el suelo. Parte de esta agua es drenada y otra escurre por la superficie, arrastrando arena, tierra, hojas y otros residuos que pueden estar sobre el suelo. (G.E.I.A. – U.T.N., 2009)

Tabla 4 Efectos causados por los contaminantes presentes en las aguas residuales

Contaminantes	Parámetro de caracterización	Tipo de efluentes	Consecuencias
Sólidos suspendidos	Sólidos suspendidos totales	Domésticos Industriales	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Problema estéticos ✓ Depósitos de barro ✓ Adsorción de contaminantes ✓ Protección de patógenos
Sólidos flotantes	Aceites y grasas	Domésticos Industriales	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Problemas estéticos
Materia orgánica biodegradable	DBO	Domésticos Industriales	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Consumo de Oxígeno ✓ Mortalidad de peces ✓ Condiciones sépticas
Patógenos	Coliformes	Domésticos	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Enfermedades transmitidas por el agua
Nutrientes	Nitrógeno Fósforo	Domésticos Industriales	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Crecimiento excesivo de algas (eutrofización del cuerpo receptor) ✓ Toxicidad para los peces (amonio) ✓ Enfermedades en niños(nitratos) ✓ Contaminación del agua subterránea.
Compuestos no biodegradables	Pesticidas Detergentes Otros	Industriales Agrícolas	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Toxicidad (varios) ✓ Espumas (detergentes) ✓ Reducción de la transferencia de Oxígeno(detergentes) ✓ No biodegradabilidad ✓ Malos olores
Metales pesados	Elementos específicos (As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn.)	Industriales	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Toxicidad ✓ Inhibición al tratamiento biológico de las aguas residuales ✓ Problemas con la disposición de los barro en la agricultura ✓ Contaminación del agua subterránea

Fuente: (G.E.I.A. – U.T.N., 2009)

2.2.3.4. Contaminación del agua

La contaminación del agua es la incorporación al agua por acción humana de sustancias, formas de energía y microorganismos que alteran su calidad. La calidad natural del agua está determinada por una serie de características físicas, químicas y microbiológicas que varían con la localización y con el uso a que va destinada.

Industrias como la automotriz, hulera y la química entre otras, contienen en sus descargas de aguas residuales metales contaminantes como plomo mercurio, cromo, arsénico, cobre, vanadio etc., estas al fluir al drenaje municipal incrementan el nivel de contaminación y por consiguiente se hace más costoso el tratamiento de las mismas; de este modo el agua destinada para el riego, provocando el detrimento de la salud pública.

Las aguas procedentes de las industrias como la minera, la de recubrimientos metálicos, las fundidoras y otras más contaminan el agua con diversos metales. Por ejemplo, las sales de metales como el plomo, el zinc, el mercurio, la plata, el níquel, el cadmio, cobre, vanadio y el arsénico son muy tóxicas para la flora y la fauna terrestres y acuáticas.

Las normas oficiales mexicanas contra la contaminación ambiental (publicadas en el Diario Oficial del 18 de octubre de 1993) consideran metales contaminantes del agua (en orden de importancia por su abundancia) a: Aluminio Plata Cadmio Arsénico Cobre Hierro Mercurio Cobalto Vanadio Manganeso Níquel Zinc Magnesio Antimonio Cromo Selenio Titanio Berilio Estaño Boro Molibdeno Tungsteno Germanio Bismuto Plomo Telurio.

2.2.4. IONES METÁLICOS DISUELTOS EN EL AGUA

2.2.4.1. Vanadio

El vanadio es el primer elemento del grupo cinco del Sistema Periódico y, como ocurre con el cinc, no se encuentra en estado nativo en la naturaleza. Se trata de un metal de transición blanco, dúctil y brillante que presenta una alta resistencia a las bases, al ácido sulfúrico (H_2SO_4) y al ácido clorhídrico (HCl). Se obtiene de distintos minerales, así como de petróleos. También se puede obtener de la recuperación del óxido de vanadio (V) en polvos procedentes de procesos de combustión. Tiene algunas aplicaciones nucleares debido a su baja sección de captura de neutrones. Es un elemento esencial en algunos seres vivos.

Su configuración electrónica externa es $3d^34s^2$, por lo que puede encontrarse en varios estados de oxidación, siendo los más comunes +2, +3, +4 y +5. Forma una gran variedad de oxoaniones polimerizados en disolución, presentando una química tan variable y compleja como la del carbono. En aguas naturales predominan los estados de oxidación superiores (+4 y +5), mostrando mayor toxicidad cuando se encuentra como vanadio (V).

En la corteza terrestre se encuentra con una concentración media de $15 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, y se conocen alrededor de 70 minerales diferentes, entre los que destacan: patronita (VS_4), vanadinita ($\text{Pb}_5(\text{VO}_4)_3\text{Cl}$) y carnotita ($\text{K}_2(\text{UO}_2)_2(\text{VO}_4)_2\cdot 3\text{H}_2\text{O}$). También aparece en la bauxita, así como en depósitos que contienen carbono, como por ejemplo en carbón, petróleos, crudo y alquitrán. Se extrae del petróleo empleando porfirinas. En aguas naturales presenta una concentración media de $2,5 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, mientras que en el agua de mar se encuentra en torno a $1,5 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y puede llegar a alcanzar una concentración de hasta $11 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ en el aire

El vanadio es un elemento esencial en algunos organismos, mientras que en el hombre no está demostrada su esencialidad, aunque existen compuestos de vanadio que imitan y potencian la actividad de la insulina. Se encuentra en algunas enzimas de distintas plantas y microorganismos, como por ejemplo, en las haloperoxidasas (generalmente bromoperoxidasas) de algunas algas, que reducen peróxidos y a la vez halógena un sustrato orgánico. Las ascidias (unos organismos marinos de la familia de los tunicados) almacenan altas concentraciones de vanadio, alrededor de un millón de veces más altas que el agua que les rodea, encontrándose en una molécula llamada hemovanadina. En estos organismos el vanadio se almacena en unas células llamadas vanadocitos.

Se encuentra de manera natural en la dieta, tanto en alimentos como en el agua, estimándose un consumo medio de $1,8 \text{ mg/día}$. Debido a su escasa absorción en el tracto gastrointestinal se excreta fácilmente por la orina y las heces.

En el agua para beber se describen valores por debajo de $10 \text{ }\mu\text{g/L}$, con un promedio de $4,3 \text{ }\mu\text{g/L}$. Cantidades altas, que van de $49,2$ a $70 \text{ }\mu\text{g/L}$, se han encontrado en ríos cercanos a minas y mantos acuíferos ubicados cerca de zonas industriales (IPCS 1988).

Los efectos adversos sobre la salud humana se manifiestan fundamentalmente como consecuencia de su inhalación más que por ingestión, acumulándose en los pulmones. Entre los síntomas más frecuentes pueden mencionarse: tos, respiración ruidosa, dolor de pecho, etc. También se ha relacionado su elevada concentración en el plasma humano con enfermedades maniaco-depresivas.

Como se ha indicado anteriormente, los niveles más altos de concentración se encuentran en el aire, debido tanto a fuentes naturales como antropogénicas. Entre las primeras se pueden citar las emisiones volcánicas, los aerosoles marinos y la lixiviación de suelos. En el caso de las fuentes

antropogénicas, destaca la combustión de combustibles fósiles ricos en vanadio, como petróleo, crudos, etc. En los sistemas acuáticos, la mayor parte de vanadio se encuentra de manera natural como consecuencia de la lixiviación de suelos, aunque también puede incorporarse a estos sistemas por deposición de las partículas aéreas, el tratamiento de suelos ricos en vanadio y los vertidos directos.

Las concentraciones en agua de mar están en un rango de 1 a 3 $\mu\text{g/L}$, con valores máximos de 7 $\mu\text{g/L}$ y de hasta 200 $\mu\text{g/kg}$ de peso seco en sedimentos costeros.

El desgaste de las rocas oceánicas y de los minerales terrestres libera vanadio en el agua y en el aire. Se considera que la concentración promedio de este metal en el suelo es alrededor de 100 $\mu\text{g/g}$ de peso seco, pero en suelos cercanos a plantas metalúrgicas los valores superan los 400 $\mu\text{g/g}$.

2.2.4.2. Cobre

El cobre es el primer elemento del grupo once del Sistema Periódico. Sus propiedades físicas y químicas tales como elevada conductividad térmica, alta conductividad eléctrica, maleabilidad, baja corrosión, capacidad para formar aleaciones y abundancia, lo convierten en uno de los metales más importantes. Es de color rojizo, encontrándose tanto en suelos, rocas, aguas, sedimentos y aire como en todos los animales y las plantas.

Su configuración electrónica externa es $3d^{10}4s^1$, siendo los estados de oxidación habituales uno y dos. En disolución el estado de oxidación estable es dos y se encuentra rodeado octaédricamente por seis moléculas de agua. La mayoría de los compuestos y complejos que forma son azules o verdes y habitualmente solubles en agua.

En la corteza terrestre presenta una concentración media de 50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, siendo los minerales más importantes: calcocita (Cu_2S), calcopirita (CuFeS_2) y malaquita ($\text{CuCO}_3\cdot\text{Cu}(\text{OH})_2$), aunque también aparece en otros minerales como cuprita (Cu_2O), azurita ($2\text{CuCO}_3\cdot\text{Cu}(\text{OH})_2$) y bornita (Cu_5FeS_4). En ríos y lagos su concentración media se encuentra en torno a los 4 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, mientras que en el agua de mar está en torno a 0,15 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ y puede llegar a 200 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$ en el aire.

En los organismos vivos, incluyendo el hombre, se considera un elemento esencial, ya que participa en un gran número de procesos biológicos como el transporte de oxígeno, actividades redox (transporte de electrones) y como cofactor de enzimas o metaloenzimas. Además, se encuentra normalmente en todos los tejidos del cuerpo humano, en la sangre, la orina, las heces, el cabello y las uñas. También se encuentra de manera natural en la dieta, tanto en los alimentos como en el agua, estimándose un consumo medio de un miligramo de cobre al día.

No obstante, una ingesta excesiva de éste puede provocar efectos tóxicos en los organismos, ya que puede inhibir la actividad enzimática y afectar al funcionamiento normal de células, tejidos y órganos. En el caso del hombre, los efectos adversos sobre la salud se manifiestan por daños en el hígado y el riñón, anemia, inmunotoxicidad, etc., aunque los más habituales suelen ser los trastornos gastrointestinales, que se manifiestan por vómitos, náuseas y dolor abdominal poco después de ingerir bebidas con contenidos elevados de cobre. Además, y dada la esencialidad de este elemento para el organismo, su deficiencia también puede provocar algunas enfermedades como anemia, osteoporosis o niveles altos de colesterol. Por tanto, es necesario que se mantenga una concentración de cobre prácticamente constante en el organismo para que no se produzcan efectos sobre la salud.

Por último, para determinar si un individuo se encuentra afectado por cobre no sólo habrá que tener en cuenta factores como la dosis, la duración y el tiempo de exposición, sino también otros factores como el contacto con otros agentes químicos, la edad, la dieta, el sexo, el estilo de vida o el estado de salud.

Como ya se ha mencionado, el cobre se encuentra en todos los compartimentos ambientales de forma natural, por lo que su acumulación a través de la cadena alimentaria debe provenir de su incorporación al medio por otras vías. Esta acumulación se realiza por procesos naturales, como pueden ser las erupciones volcánicas, los incendios forestales (no provocados), el polvo arrastrado por el aire, los restos de fauna y vegetación o la espuma del mar, y por las actividades antropogénicas, entre las más importantes se pueden citar: combustión de residuos y combustibles fósiles, aguas residuales industriales y urbanas, residuos minería, producción de madera, producción de fertilizantes, etc. Cuando el cobre o sus compuestos se emiten al aire, como sucede con las plantas industriales que procesan el mineral de cobre, éste lo hace en forma de partículas que pueden ser arrastradas varios kilómetros desde la fuente de emisión.

Posteriormente, estas partículas se depositarán en el suelo debido a la gravedad o a las precipitaciones (lluvia o la nieve), o bien pueden llegar hasta el mar, donde se pueden unir a las partículas suspendidas en el agua, depositándose finalmente en los sedimentos. En el caso de las aguas residuales industriales o urbanas el proceso es similar, ya que se acumula en los sedimentos de los ríos, lagos y estuarios. Una vez que el cobre llega a los sedimentos, si se producen alteraciones en las características fisicoquímicas del sistema, puede ocurrir que parte de éste se lixivie en el agua y sea absorbido por los distintos microorganismos presentes en el sistema, o sea retenido en forma particulada en el sistema de filtración de los organismos bénticos.

Posteriormente, comienza su incorporación a la cadena trófica hasta poder llegar al hombre.

2.3. FUNDAMENTO LEGAL

Muchos de los países alrededor del mundo tienen una organización responsable para la acreditación de sus laboratorios nacionales; en el caso de Ecuador, es el Organismo de Acreditación Ecuatoriano (OAE).

El Organismo de Acreditación Ecuatoriano, brinda las bases para la validación y acreditación de laboratorios en el Ecuador, dando como base el documento “Criterios generales de Acreditación de Laboratorios de Ensayo y Calibraciones”, basado en la norma NTE INEN – ISO/IEC 17025:2005, en su apartado 5.4.5 donde da una base para evaluar y calcular los parámetros necesarios para la validación.

Para realizar la validación de Cobre (Cu) y (V) en Aguas Limpias y residuales se debe conocer el efecto perjudicial para el medio ambiente en el Ecuador.

En esta investigación se utilizó la siguiente base legal:

- ISO/IEC 17025:2005
- Ordenanza Metropolitana N° 0213 sustitutiva del título V “De la Prevención y Control del Medio Ambiente” de la Dirección Metropolitana de Medioambiente DMMA 2007
- TULAS Libro VI Anexo 1 del Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente (Edición Especial N° 2, 31/3/2003).
- NTE INEN 1108:2006 Agua Potable. Requisitos

CAPITULO III

3. METODOLOGÍA

3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

El tipo de investigación es teórica – experimental. La parte teórica se la realizó mediante la investigación bibliográfica de métodos, publicaciones, temas afines encontrados en libros, páginas web y manuales de validación. La parte experimental se la realizó en el laboratorio de Ofertas de Servicios y Productos (OSP) en el área de ambiental con los equipos, materiales y reactivos que posee el laboratorio, y se obtuvo datos en condiciones de laboratorio a fin de aplicarlos en la validación del método espectrofotometría de absorción atómica electrotrémica en el análisis de cobre y vanadio en aguas limpias y residuales.

3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA

- **Población:** La validación no cuenta con una población debido a que el método que se va a validar no incluye muestreo, es un análisis de cuantificación.
- **Muestra:** estándares de Cobre y Vanadio de una concentración de 1000 ppm.

3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

El procedimiento de validación de los metales cobre y vanadio en aguas está basado en el instructivo Guía de Laboratorio para la Validación de Métodos y Tópicos Relacionados “Eurachem”. La investigación se realizó en el laboratorio OSP en el área de ambiental.

El diseño experimental que se empleó para la validación, fue Bloques Completos al Azar (BCA), del tipo **a x b**:

Donde **a**: son los niveles de concentración de los metales Cobre y Vanadio, incluido el blanco

Y **b**: son los días de análisis, con 10 repeticiones para cada concentración

Este diseño se aplicó con el fin de reducir y controlar la variación del error experimental para tener una mayor precisión.

En las tablas 5 y 6 se presentan el número de análisis que se desarrollaron para cada analito incluido el material de referencia.

Tabla 5 Número de análisis para el cobre incluido el material de referencia

COBRE							
CONCENTRACIÓN µg/L	Linealidad	LD	LC	Repetibilidad	Reproducibilidad		
					Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
Blanco	5	10	10				
10	5	10	10	10	2	2	2
20	5	10	10	10	2	2	2
30	5	10	10				
40	5	10	10	10	2	2	2
50	5	10	10				
Material de referencia		1	1	1	1	1	1
Muestra		1	1	1	1	1	1

Elaborado por: Mayra Vásquez

Tabla 6 Número de análisis para el cobre incluido el material de referencia

VANADIO							
CONCENTRACIÓN µg/L	Linealidad	LD	LC	Repetibilidad	Reproducibilidad		
					Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
Blanco	5	10	10				
20	5	10	10	10	2	2	2
40	5	10	10				
60	5	10	10	10	2	2	2
80	5	10	10	10	2	2	2
100	5	10	10				
Material de referencia	1	1	1	1	1	1	1
Muestra	1	1	1	1	1	1	1

Elaborado por: Mayra Vásquez

3.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS ANALÍTICOS

3.4.1. MÉTODO

El procedimiento que se aplicó para la determinación de los metales Cobre y Vanadio es el de espectrofotometría de absorción atómica electrotérmica, el cual está basado en la norma APHA, AWWA 3113B.

3.4.2. EQUIPOS

- Espectrofotómetro de absorción atómica PERKIN ELMER AANAYST 100.



FIGURA 14. Espectrofotómetro de absorción atómica
Fuente: Laboratorio OSP Área de Ambiental

- Horno de grafito PERKIN ELMER AGH 800



FIGURA 15. Horno de Grafito y auto muestreador
Fuente: Laboratorio OSP Área de Ambiental

- Destilador para agua clase 1 MILLIPORE



FIGURA 16. Destilador de Agua Clase 1
Fuente: Laboratorio OSP Área de Ambiental

3.4.3. MATERIALES

- Micro pipeta (2 a 20 μL)
- Micro pipeta (10 a 100 μL)
- Balones Aforados de 100ml
- Contenedores de polietileno para el auto muestreador (Viales)

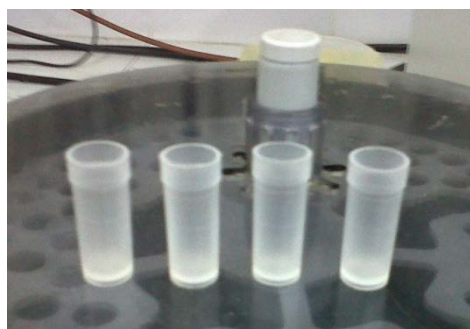


FIGURA 17. Viales de Polietileno
Fuente: Laboratorio OSP Área de Ambiental

Todo el material volumétrico utilizado en este método fue clase A con certificado o en su caso debe estar calibrado.

3.4.4. REACTIVOS Y PATRONES

Todos los productos químicos usados en este método fueron de grado reactivo analítico, a menos que indique otro grado.

- Agua libre de metales
- Acido nítrico al 0.2 %
- Estándares de Cu y V de 1000 ppm
- Purga de gas: El suministro de gas argón debe ser alto grado de pureza, 99,99% o superior.



FIGURA 18. Cilindro de Gas Argón

Fuente: Laboratorio OSP Área de Ambiental

3.4.5. PREPARACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DE LOS METALES COBRE Y VANADIO

3.4.5.1. Cobre

3.4.5.1.1. Procedimiento

- **Solución Madre de cobre.-** En un balón de 1000 ml se tomó una alícuota de 100µL del estándar de cobre (1000ppm) y se aforó con ácido nítrico al 0.2%, consiguiendo de esta manera una solución madre de cobre de 100 ppb.
- Posteriormente se preparó una solución de 50ppb adicionando HNO₃ al 0.2%.
- Luego se colocó el estándar de 50 ppb en un vial y en otro vial el blanco (HNO₃), identificando la localización de los viales se procedió colocar en el auto muestreador.

- El auto muestreador tomó 20µl de solución y colocó en el horno de grafito para analizarse, el equipo directamente dio la lectura de absorbancia digital que permite la calibración de la curva en términos directos de concentración. Con el software se puede apreciar la curva de calibración, los picos obtenidos, la absorbancia y el resultado en µg/L.

En la tabla 7 se muestra la preparación de la curva de calibración realizados bajo condiciones del Espectrofotómetro de absorción atómica PERKIN ELMER AANAYST 100 con Horno de grafito PERKIN ELMER AGH 800.

Tabla 7 Estándares para la curva de calibración del cobre.

Localización vial	Identificación	Cu µg/ml	Alícuota µL (Estandar)	Diluyente µL (HNO ₃ 0.2%)
76	Blank	0	20	0
1	ST₁	10	4	16
1	ST₂	20	8	12
1	ST₃	30	12	8
1	ST₄	40	16	4
1	ST₅	50	20	0

Elaborado por: Mayra Vásquez

3.4.5.2. Vanadio

3.4.5.2.1. Procedimiento

- **Solución Madre de vanadio.-** En un balón de 1000 ml se tomó una alícuota de 1 ml del estándar de vanadio (1000ppm) y se aforó con ácido nítrico al 0.2%, consiguiendo de esta manera una solución madre de vanadio de 1000 ppb.
- Posteriormente se preparó una solución de 100ppb adicionando HNO₃ al 0.2%.
- Luego se colocó el estándar de 100 ppb en un vial y en otro vial el blanco, identificando la localización de los viales se procedió colocar en el auto muestreador.
- El auto muestreador tomó 20µl de solución y colocó en el horno de grafito para analizarse, el equipo directamente dio la lectura de absorbancia digital que permite la calibración de la curva en términos directos de concentración. Con el software se puede apreciar la curva de calibración, los picos obtenidos, la absorbancia y el resultado en µg/L.

En la tabla 8 se muestra la preparación de la curva de calibración realizados bajo condiciones del Espectrofotómetro de absorción atómica PERKIN ELMER AANAYST 100 con Horno de grafito PERKIN ELMER AGH 800.

Tabla 8 Estándares para la curva de calibración.

Localización vial	Identificación	V μg/ml	Alícuota μL (Estandar)	Diluyente μL (HNO ₃ 0.2%)
76	Blank	0	20	0
1	ST₁	20	4	16
1	ST₂	40	8	12
1	ST₃	60	12	8
1	ST₄	80	16	4
1	ST₅	100	20	0

Elaborado por: Mayra Vásquez

3.4.6. PROCEDIMIENTO DEL TRATAMIENTO DE MUESTRAS

Antes del análisis, se trató previamente las muestras como se indica a continuación (Norma Técnica Ambiental, 2000)

- Lavar los materiales con ácido nítrico 1+1 y abundante agua, homogenizar con agua libre de metales.
- Realizar una digestión con ácido nítrico concentrado y agua en un lugar limpio, libre de polvo y contaminación de la siguiente manera.
 - ✓ Transferir un volumen de muestra apropiadamente homogenizada medido (se recomienda 100 ml), en la sorbona adicionar 5 ml de HNO₃ concentrado.
 - ✓ Llevar a ebullición lenta hasta evaporar el menor volumen posible (aproximadamente 10 a 30 ml) sobre una placa caliente. No dejar que la muestra se seque durante la digestión.
 - ✓ Lavar las paredes del vaso de precipitación y la cubierta de vidrio (si se utilizó) con agua libre de metales.
 - ✓ Filtrar en un balón volumétrico de 100 ml, y añadir agua libre de metales hasta el aforo y mezclar cuidadosamente.
- Añadir una cantidad apropiada de modificador de matriz y diluir con agua libre de metales hasta el volumen de aforo.
- Llenar los viales de polipropileno previamente homogenizados, con la muestra digerida.

- Colocar los viales dentro del muestreador automático previamente codificados, el equipo tomará 20 μL de la muestra y colocará en el tubo de grafito para analizarse en el espectrofotómetro de absorción atómica electrotérmica.
- Antes de realizar las lecturas correspondientes se debe se debe poner auto cero al instrumento, y se procede a analizar las muestras.
- Si la concentración de la muestra esta fuera de la curva de calibración se realizará las respectivas diluciones para lograr que la muestra entre dentro del rango.
- El auto muestreador tomó 20 μl de solución y colocó en el horno de grafito para analizarse, el equipo directamente dio la lectura de absorbancia digital que permite la calibración de la curva en términos directos de concentración. Con el software se puede apreciar la curva de calibración, los picos obtenidos, la absorbancia y el resultado en $\mu\text{g/L}$.
- Registrar los resultados obtenidos luego de las mediciones.

3.4.7. PROCEDIMIENTO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA DETERMINAR COBRE Y VANADIO

La Validación del método Espectrométrico de Absorción Atómica Electrotérmica para la detección de Cobre y Vanadio en Agua Limpias y Residuales, está basado en el instructivo de validación del laboratorio OSP. Los parámetros para la validación fueron:

- Linealidad.
- Límite de detección
- Límite de cuantificación.
- Límite de repetitibilidad.
- Límite de reproducibilidad.
- % de Recuperabilidad
- Incertidumbre

Para realizar la determinación de absorbancia de cada uno de los estándares, blanco, material de referencia certificado se establece las siguientes condiciones y parámetros instrumentales de trabajo en el equipo de Absorción Atómica marca Perkin Elmer AAnalyst 100 acoplado el Horno de Grafito marca Perkin Elmer AGH 800, a continuación se indica las condiciones de trabajo.

Tabla 9. Condiciones de Trabajo en el Espectrofotómetro de Absorción Atómica Electrotérmica para la detección de Cobre y Vanadio

Parámetros Instrumentales	Condiciones de Trabajo del Cobre	Condiciones de Trabajo del Vanadio
Modo del Instrumento	Horno	Horno
Longitud de Onda (nm)	324.8	318.4
Anchura de la Abertura	0.7	0.7
Tiempo de Lectura (sec)	5.0	5.0
Demora de Lectura (sec)	0.0	0.0
Tipo de Señal	AA-BG	AA-BG
Medición de la Señal	Área del Pico	Área del Pico
Modificador de Matriz	No	No
Replicas	1	1
Volumen de Trabajo (µL)	20	20
Volumen de Lectura (µL)	20	20
Tipo de Curva	Cero Intercepción Lineal	Cero Intercepción Lineal
Temperatura de Inyección (°C)	20	20
Secuencia	Diluyente + Muestra/Std	Diluyente + Muestra/Std
Preparación de Muestras	Manual	Manual

Elaborado: Mayra Vásquez

Tabla 10. Condiciones del Horno de Grafito para el Cobre

Etapas #	Temp (°C)	Tiempo de Rampa	Tiempo de Calentamiento	Flujo Interno	Tipo de Gas (Ar)	Etapas de Lectura
1	100	10	50	250	Normal	
2	1000	1	30	250	Normal	
3	20	1	15	250	Normal	
4	2300	0	5	0	Normal	X
5	2600	1	5	250	Normal	

Elaborado: Mayra Vásquez

Tabla 11. Condiciones del Horno de Grafito para el Vanadio

Etapas #	Temp (°C)	Tiempo de Rampa	Tiempo de Calentamiento	Flujo Interno	Tipo de Gas (Ar)	Etapas de Lectura
1	120	10	50	250	Normal	
2	1100	1	30	250	Normal	
3	20	1	15	250	Normal	
4	2100	0	5	0	Normal	X
5	2600	1	5	250	Normal	

Elaborado: Mayra Vásquez

3.4.7.1. Linealidad.

Tomar por lo menos cinco curvas que tengan mínimo diez estándares en concentraciones diferentes de analito, (ocho dentro del rango normal de trabajo y dos fuera), identificar los estándares o patrones con los que se preparan las soluciones de trabajo en el encabezado del registro, realizar el ensayo. Registrar los resultados obtenidos en el registro de validación de métodos correspondiente de acuerdo a lo indicado en el.

3.4.7.2. Límite de detección.

Tomar 10 blancos independientes sea en condiciones de repetibilidad, (mismo analista, corto periodo de tiempo, mismo equipo) o reproducibilidad (diferente analista, diferente equipo o largo periodo de tiempo).

$$L.D = 3 \times S$$

Ecuación 6

Donde: S es la desviación estándar

3.4.7.3. Límite de cuantificación.

Tomar 10 blancos independientes que sean en condiciones de repetibilidad, (mismo analista, corto periodo de tiempo, mismo equipo) o reproducibilidad (diferente analista, diferente equipo o largo período de tiempo).

$$L.C = 10 \times S$$

Ecuación 7

3.4.7.4. Repetitibilidad

- ✓ Tomar tres o más muestras de diferente concentración de analito, realizar el ensayo diez veces en cada muestra en condiciones de repetibilidad.
- ✓ La desviación estándar relativa determinan si los datos experimentales son o no precisos.

$$\% SDr = \frac{\sigma}{X} * 100$$

Ecuación 8

$$Lr = (\sqrt{2}) * (\sigma \max) * (Zscore)$$

Ecuación 9

- ✓ El cálculo de la F calculada y la F tabulada nos indica:

Si F calculada < F tabulada: Es no significativo

Si F calculada > F tabulada: Es significativo

- ✓ La F calculada se calcula con la siguiente fórmula:

$$F_{CALCULADA} = \frac{(\sigma \max)^2}{(\sigma \min)^2}$$

Ecuación 10

- ✓ El Zscore es un parámetro que permite hacer el cálculo de la probabilidad, se utiliza para el cálculo de la Repetibilidad (Lr) y la Reproducibilidad (LR).

3.4.7.5. Reproducibilidad

Tomar tres o más muestras de diferente concentración de analito en rango bajos medio y alto, realizar el ensayo diez veces en cada muestra en condiciones de reproducibilidad, identificando los datos de la muestra o patrón utilizado en el encabezado del registro.

3.4.7.6. Exactitud

- ✓ Se realizan las mediciones del material de referencia en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad Concentración Teórica.
- ✓ La exactitud también se puede evaluar también por la participación en un PT o intercomparacion.
- ✓ El Zscore, es una manera que permite verificar la dispersión de los datos alrededor de un valor tomado como verdadero, se fundamenta en la comparación entre un valor estandarizado menos el valor experimental, dividido para la desviación estándar del valor verdadero.

$$Z - score = \frac{X_{\text{Experimental}} - X_{\text{Teórica}}}{S_{\text{Teórica}}}$$

Ecuación 11

Tabla 12 Criterios De Validación

VALOR ABSOLUTO DE Z	INTERPRETACIÓN
≤ 2	Satisfactorio
$2 < Z < 3$	Cuestionable
≥ 3	Insatisfactorio

Elaborado: Mayra Vásquez

3.4.7.7. Incertidumbre

Parámetro asociado con el resultado de una media, que caracteriza la dispersión de los valores que se pueden atribuir razonablemente al analizado. Puede ser una desviación estándar o la amplitud de un intervalo de confianza. (FAO, 2008)

Para la estimación de la incertidumbre es necesario conocer las fuentes que contribuyen en la determinación, siendo:

- ✓ **Contribuciones tipo A.-** Aquellos que son calculados por métodos estadísticos, ejemplo: repetibilidad, reproducibilidad y exactitud.
- ✓ **Contribuciones tipo B.-** Aquellos que provienen de certificados u otros medios.

Generalmente el valor de incertidumbre que aparecen en los certificados de calibración de los equipos, es necesario transformar a una incertidumbre estándar, esta es la utilizada para el cálculo final, se obtiene dividiendo el valor de la incertidumbre del certificado para dos; en el caso de materiales volumétricos y resoluciones de equipos la incertidumbre reportada es necesario dividirla para la raíz de tres, una vez transformados estos valores serán utilizados para establecer la incertidumbre del método que se realizará por adición de varianzas de cada uno de los términos.

Tabla 13. Incertidumbres de Equipos

EQUIPO		INCERTIDUMBRE	unidades
U FR(CALIBRACION)		18.612	%
BALON AFORADO 100ml	0.1000	0.100	%
Resolución del espectrofotómetro (abs.)	0.0010	0.833	%

Elaborado: Mayra Vásquez

➤ INCERTIDUMBRE ACUMULADA

$$\mu_{ACUMULADA}^2 = \text{Contribuciones de Tipo A} + \text{Contribuciones Tipo B}$$

Ecuación 12

➤ INCERTIDUMBRE EXPANDIDA

$$\mu_{EXPANDIDA} = 2 \times \mu_{ACUMULADA}$$

Ecuación 13

3.4.7.8. Aceptación de la validación

3.4.7.8.1. Para la Linealidad:

Se hace una prueba de mínimos cuadrados, se aceptará el rango que tenga un coeficiente de correlación de 0.99 (R^2). Adicionalmente se puede realizar una comparación de los resultados de pendiente, intersección al eje y coeficiente de correlación de la curva obtenida, con una anterior en base al L_m , L_b y L_r^2 , esto será opcional en cada área dependiendo de la naturaleza del método.

Para establecer límites de aceptación de curva de calibración: (opcional en cada área dependiendo de la naturaleza del método).

Tomamos por lo menos 10 curvas de calibración independientes dentro del rango de trabajo, se registran los datos y se determina L_k , L_m , L_r^2 , se aceptan como validos si los %SDR $\leq 5\%$.

3.4.7.8.2. Para los límites de Repetibilidad y Reproducibilidad:

Se realiza una prueba de F para diez repeticiones, la F calculada puede ser menor que la F tabulada lo que indicara que no hay diferencia significativa entre los datos obtenidos en los rangos determinados, por lo que son considerados como satisfactorios. Caso contrario se establecerán rangos y se determina criterio de aceptación y rechazo para cada punto, la repetibilidad y reproducibilidad se aceptan si el % de SDr y SDR es \leq al 5%.

3.4.7.8.3. Limite de detección y cuantificación

Se aceptará el límite de detección y cuantificación si cumple con las necesidades del ensayo.

3.4.7.8.4. Para la Recuperabilidad

Se acepta cuando al dividir el valor obtenido para el esperado y esto por cien, se encuentra entre el 80y 120%. Tomar una muestra de patrón primario, materiales de referencia, o muestras de las cuales se conozca la concentración por una intercomparación de diferente concentración de analito, realizar el ensayo diez veces (si la cantidad de muestra lo permite), en condiciones de repetibilidad, identificando los datos de la muestra o patrón utilizado en el encabezado del registro.

Tabla 14. Criterios de aceptación o rechazo de la validación

PRUEBAS	CRITERIO	Cumple / No cumple
<i>REPETIBILIDAD</i>	$\%SDr \leq 5\%$	Cumple / No cumple
<i>REPRODUCIBILIDAD</i>	$\%SDR \leq 5\%$	Cumple / No cumple
<i>EXACTITUD</i>	$Z\text{-score} \leq 2$	Cumple / No cumple
<i>INCERTIDUMBRE</i>	$\leq 30\%$ del Rango bajo	Cumple / No cumple
<i>RECUPERABILIDAD</i>	80 - 120 %	Cumple / No cumple
<i>LINEALIDAD</i>	0.99	Cumple / No cumple

Elaborado: Mayra Vásquez

CAPITULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. TABLAS DE DATOS EXPERIMENTALES Y CALCULOS DEL COBRE

4.1.1. Límite de Detección (LD) y Límite de Cuantificación (LC)

Tabla 15 Datos experimentales para la determinación del Límite de Detección y Límite de Cuantificación

N°	BLANCO		CONCENTRACIÓN µg/L
	*H ₂ NO ₃	*H ₂ O	
1	0,2	100	1,3510
2	0,2	100	0,3020
3	0,2	100	1,0540
4	0,2	100	0,7460
5	0,2	100	0,6390
6	0,2	100	0,0920
7	0,2	100	1,2960
8	0,2	100	1,4570
9	0,2	100	0,8210
10	0,2	100	1,7340
Media			0,9492
Σ			0,5243
LD			1,5729
LC			5,2431

Elaborado por Mayra Vásquez

*el ácido nítrico concentrado y el agua debe ser libre de metales

$$\begin{aligned}LD &= 3 \times \sigma \\LD &= 3 \times 0,5243 \\LD &= 1,5729\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}LC &= 10 \times \sigma \\LC &= 10 \times 0,5243 \\LC &= 5,2431\end{aligned}$$

De acuerdo con la guía de validación seguida por el laboratorio OSP, se calculó el límite de detección a partir de la desviación estándar del blanco (matriz libre de metales).

El límite de cuantificación para el intervalo de acreditación del cobre es de 5.24 ppb cumpliendo con lo establecido por el OSP Área de Ambiental, indicando que a partir de este nivel de concentración se puede cuantificar con exactitud y precisión aceptable.

4.1.2. Repetibilidad (Lr)

Tabla 16 Datos Experimentales para la Determinación de la Repetibilidad en el Punto Uno

X Declarado 10 ppb

Nº	ALICUOTA (ml)	AFORO (ml)	LECTURA (ppb)
1	10	100	10,59
2	10	100	10,97
3	10	100	10,78
4	10	100	11,05
5	10	100	11,06
6	10	100	11,74
7	10	100	10,38
8	10	100	10,11
9	10	100	11,55
10	10	100	11,27
Media			10,95
σ			0,5053
% SDR			4,615

Elaborado Por Mayra Vásquez

Tabla 17 Datos Experimentales para la Determinación de la Repetibilidad en el Punto Dos

X Decarado 20,00 ppb

Nº	ALICUOTA (ml)	AFORO (ml)	LECTURA (ppb)
1	20	100	22,3
2	20	100	21,03
3	20	100	22,78
4	20	100	22,48
5	20	100	21,92
6	20	100	20,34
7	20	100	22,47
8	20	100	21,85
9	20	100	20,88
10	20	100	20,76
Media			21,681
σ			0,8596
% SDR			3,965

Elaborado Por Mayra Vásconez

Tabla 18 Datos Experimentales para la Determinación de la Repetibilidad en el Punto Tres

X Declarado 40 ppb

Nº	ALICUOTA (ml)	AFORO (ml)	LECTURA (ppb)
1	40	100	42,01
2	40	100	41,88
3	40	100	42,23
4	40	100	40,57
5	40	100	40,71
6	40	100	41,88
7	40	100	40,56
8	40	100	40,86
9	40	100	42,25
10	40	100	41,52
Media			41,447
σ			0,6991
% SDR			1,687

Elaborado Por Mayra Vásconez

Tabla 19 Cálculos estadísticos para la Determinación de la Repetibilidad

	Media (ppb)	σ	σ_{\max}	σ_{\min}	F _{CALCULADA}	F _{TABULADA}
PUNTO 1	10,95	0,51	0,86	0,51	2,89	3,18
PUNTO 2	21,68	0,86	0,86	0,70	1,51	3,18
PUNTO 3	41,45	0,70	0,70	0,51	1,91	3,18

%SDr	
PUNTO 1	4,61
PUNTO 2	3,96
PUNTO 3	1,69

$$Lr = (\sqrt{2}) * (\sigma \text{ max}) * (Zscore)$$

$$Lr = (\sqrt{2}) * (0.86) * (1.960)$$

$$Lr = 2.38ppb$$

Lr	2.38
Lr	1.94

El coeficiente de variación de cada una de las concentraciones fue inferior al 5 % por lo tanto no existe variación significativa entre los datos obtenidos en condiciones de Repetibilidad (mismo analista, mismo día).

La Repetibilidad (Lr) obtenida en el tratamiento estadístico, determina el aseguramiento de los resultados, en aceptar o rechazar los datos cuantificados en condiciones de Repetibilidad.

En el tratamiento estadístico realizado, se puede observar que la F calculada es menor a la F tabulada, lo que quiere decir que es no significativo en el nivel bajo, nivel medio y alto, debido a esto existe un rango de concentración para la cuantificación de cobre.

4.1.3. Reproducibilidad (LR)

Tabla 20. Datos Experimentales para la Determinación de la Reproducibilidad en el punto uno

X Declarado 10 ppb

Nº	Alícuota ml	Aforo ml	LECTURA
1	10	100	10,57
2	10	100	10,97
3	10	100	10,75
4	10	100	11,24
5	10	100	11,06
6	10	100	11,74
7	10	100	10,38
8	10	100	10,11
9	10	100	11,55
10	10	100	11,27
X			10,96
σ			0,52
%SDr			4,71

Elaborado Por Mayra Vásquez

Tabla 21. Datos Experimentales para la Determinación de la Reproducibilidad en el punto dos

X Declarado 20 ppb			
Nº	Alícuota ml	Aforo ml	LECTURA
1	20	100	19,99
2	20	100	20,85
3	20	100	21,31
4	20	100	20,65
5	20	100	22,7
6	20	100	20,63
7	20	100	20,63
8	20	100	20,45
9	20	100	20,24
10	20	100	21,79
X			20,92
σ			0,81
%SDr			3,86

Elaborado Por Mayra Vásquez

Tabla 22. Datos Experimentales para la Determinación de la Reproducibilidad en el punto tres

X Declarado 40 ppb

Nº	Alícuota ml	Aforo ml	LECTURA
1	40	100	42,12
2	40	100	40,62
3	40	100	42,2
4	40	100	41,65
5	40	100	41,93
6	40	100	42,63
7	40	100	41,24
8	40	100	41,05
9	40	100	40,44
10	40	100	40,23
X			41,41
σ			0,82
%SDr			1,98

Elaborado Por Mayra Vásquez

Tabla 23. Cálculos estadísticos para la Determinación de la Reproducibilidad del cobre

	Media (ppb)	σ	σ_{\max}	σ_{\min}	F _{CALCULADA}	F _{TABULADA}
PUNTO 1	10,96	0,52	0,81	0,52	2,45	3,18
PUNTO 2	20,92	0,81	0,82	0,81	1,03	3,18
PUNTO 3	41,41	0,82	0,82	0,52	2,53	3,18

%SDr	
PUNTO 1	4,71
PUNTO 2	3,86
PUNTO 3	1,98

$$Lr = (\sqrt{2}) * (\sigma \text{ max}) * (Zscore)$$

$$Lr = (\sqrt{2}) * (0.82) * (1.960)$$

$$Lr = 2.27 \text{ ppb}$$

LR	2,27
LR	2,24

La reproducibilidad (LR) obtenida en el tratamiento estadístico, determina el aseguramiento de los resultados, en aceptar o rechazar los datos cuantificados en condiciones de reproducibilidad (diferente día o analista).

El coeficiente de variación de cada una de las concentraciones fue inferior al 5 % por lo tanto no existe variación significativa entre los datos hechos por el mismo analista en diferentes días; lo que quiere decir que los resultados son completamente reproducibles

El tratamiento estadístico realizado a los datos experimentales, se puede observar que la F calculada es menor a la F tabulada, lo que quiere decir que es no significativo, debido a esto se divide en un rango de concentración para la cuantificación del Cobre.

4.1.4. Exactitud

Tabla 24. Datos Teóricos del Material de Referencia Certificado de la Determinación del Cobre

X DECLARADO	78,30
S ESTUDIO	4,64

Tabla 25. Datos Experimentales del Material de Referencia Certificado para la Determinación de la Exactitud del Cobre

Nº	Lectura ppb (FD=5)	Absorbancia	Con. QCI
1	15,54	0,147	77,70
2	16,89	0,155	84,45
3	14,92	0,145	74,60
4	16,38	0,150	81,90
X	79,66		
σ	4,37		
Z SCORE	0,29		

Elaborado por Mayra Vásquez

4.1.5. Cálculo del Z score.

$$Z - Score = \frac{\bar{X} \text{ experimental} - \bar{X} \text{ certificada}}{S \text{ certificada}}$$

$$Z - Score = \frac{79.66 - 78.30}{4.64}$$

$$Z - Score = 0.29$$

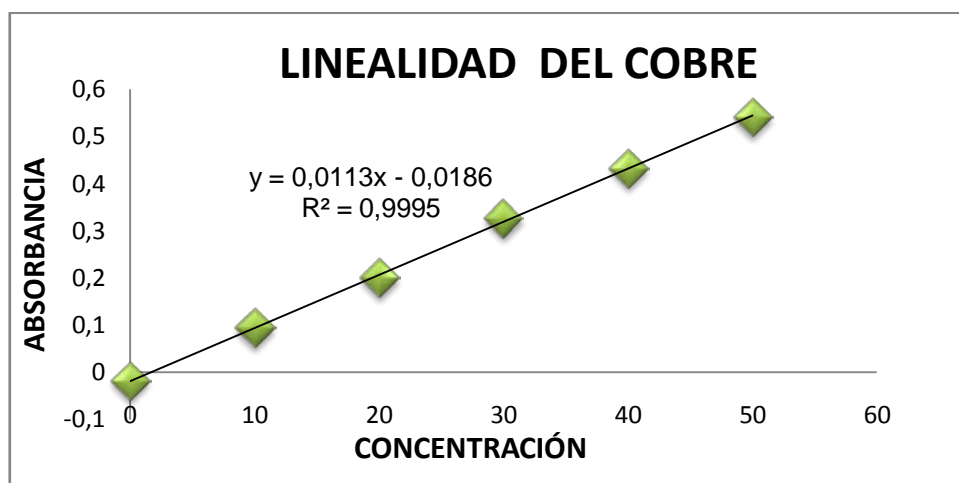
Para la evaluación de la exactitud se utilizó el método del Z-Score, en donde se comparó la media experimental con la media teórica, obteniéndose resultados satisfactorios.

4.1.6. Linealidad

Tabla 26. Cálculo Experimental para la Determinación de la Linealidad del Cobre³

No	Concentración	Lectura	Lectura Corregida	d	d ²	dx	dx ²	x ²
1	0,000	-0,018	-0,018	0,000	2,26757E-09	-25,000	625	0
2	10,000	0,094	0,136	-0,042	0,001733731	-15,000	225	100
3	20,000	0,200	0,289	-0,089	0,007978743	-5,000	25	400
4	30,000	0,326	0,443	-0,117	0,013691229	5,000	25	900
5	40,000	0,433	0,597	-0,164	0,026796131	15,000	225	1600
6	50,000	0,541	0,750	-0,209	0,043840383	25,000	625	2500
				suma	0,094040219	suma	1750	5500

Elaborado por Mayra Vásconez



Elaborado: Mayra Vásconez

FIGURA 19. Linealidad del Cobre

Al realizar la curva de calibración se determinó que el método tiene un comportamiento lineal, ya que el coeficiente de correlación obtenido experimentalmente es de 0.9998 es decir muy cercano a 1, cumpliendo satisfactoriamente con el criterio de validación.

³ Donde **d**: Es la diferencia entre la lectura con la corregida en la absorbancia $d = \text{Lectura} - \text{Lectura Corregida}$ **d²**: $d^2 = d * d$ **dx**: $dx = \text{concentración} - \text{valor medio de la concentración}$ **(dx)²**: $(dx)^2 = dx * dx$ **X**: Concentración **X²**: $X^2 = X * X$

Tabla 27. Resultados Calculados de la Linealidad del Cobre

Pendiente	0,0113
Intersección	-0,0186
sy,x	0,12519
sm	0,00299
sb	0,07847
R	0,9998
R²	0,9995

Elaborado: Mayra Vásquez

4.1.7. Recuperabilidad

Tabla 28. Cálculos de la Recuperabilidad del Cobre

Nº	Lectura ppb (FD=5)	Absorbancia	Concentración. QCI
1	15,54	0,147	77,70
2	16,89	0,155	84,45
3	14,92	0,145	74,60
4	16,38	0,150	81,90
Media			79,66

Elaborado: Mayra Vásquez

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{X \text{ obtenido}}{X \text{ esperado}} \times 100$$

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{79.66}{78.30} \times 100$$

$$\% \text{ Recuperación} = 101.73 \%$$

Al realizar pruebas de Recuperabilidad con un material de referencia certificado (MRC), se demostró que el método es capaz de determinar el analito, ya que la exactitud satisface los requerimientos establecidos por el OAE.

4.1.8. Evaluación de la incertidumbre debido a los equipos de medida para la determinación de cobre.

Tabla 29. Contribuciones del Tipo A

PRECISIÓN	REPETIBILIDAD	Máxima Desviación Estándar obtenida de todas las muestras tratadas en condiciones de repetibilidad	5.16%
	REPRODUCIBILIDAD	Máxima Desviación Estándar obtenida de todas las muestras tratadas en condiciones de reproducibilidad	
EXACTITUD		Máxima Desviación Estándar obtenido al utilizar materiales de referencia	5.59%

Elaborado por: Mayra Vásquez

Tabla 30. Contribuciones del Tipo B

EQUIPO		INCERTIDUMBRE	Unidades
U FR(CALIBRACION)		13,635	%
BALON AFORADO 100ml	0,1000	0,100	%
Resolución del espectrofotómetro(abs.)	0,0010	0,500	%

Elaborado por: Mayra Vásquez

4.1.9. Cálculo de la Incertidumbre acumulada.

$$\mu^2_{ACUMULADA} = \text{Contribuciones del Tipo A} + \text{Contribuciones del Tipo B}$$

$$\mu^2_{ACUMULADA} = (5.16)^2 + (5.59)^2 + \left(\frac{13.635}{2}\right)^2 + \left(\frac{0.100}{2}\right)^2 + \left(\frac{0.500}{\sqrt{3}}\right)^2$$

$$\mu_{ACUMULADA} = 10.22$$

4.1.10. Cálculo de la Incertidumbre expandida.

$$\mu_{EXPANDIDA} = 2 * \mu_{ACUMULADA}$$

$$\mu_{EXPANDIDA} = 20.44 \%$$

4.1.11. Intervalo de Trabajo.

Tabla 31. Rango de Trabajo

U%		
RANGO	7,01 - 45,00	20,44

Elaborado por: Mayra Vásquez

Se determinó la resolución del equipo con lo que se calculó la incertidumbre en ppb que es un dato utilizado para el cálculo de la incertidumbre expandida.

La incertidumbre expandida ($\mu_{\text{EXPANDIDA}}$) es 20.44 %, cumpliendo con el valor establecido en los criterios de aceptación de la validación.

La determinación del límite de cuantificación es un parámetro importante ya que a partir de este valor se determinó el intervalo de trabajo con el que se llevó a cabo la investigación.

4.1.12. Resumen de la Validación.

RESUMEN DE LA VALIDACION					
Método:	Espectrofotometría de absorción atómica electrotrémica				
Analito:	Cobre				
Unidades:	µg/l				
Matrices:	Aguas Limpias y Residuales				
SELECTIVIDAD / ESPECIFICIDAD					
LIMITES					
Limites			Valor		Unidades
De detección:			1.57		ug/l
De cuantificación:			5.24		ug/l
PRECISION, EXACTITUD					
Niveles (mg/l)	Repetibilidad		Reproducibilidad		Exactitud
	Lr	% CVr	LR	% CVr	
10	2.38	4.61	2.24	4.71	Zscore = 0.29 %
20	2.38	3.96	2.27	3.86	% Recuperación
40	1.94	1.69	2.24	1.98	
					101.73 %
INCERTIDUMBRE					
Incertidumbre			Valor		Unidades
Acumulada:			10.22		%
Expandida:			20.44		%
Intervalo de Trabajo:			5.24 – 21.68		ppb
CRITERIOS DE ACEPTACION Y RECHAZO					
Pendiente:		0.0113			
Ordenada al origen:		-0.186			
Coeficiente de Correlación, min		0.9998			
Sx,y		0.12519			
Repetibilidad		%SDr ≤ 5%		CUMPLE	
Reproducibilidad		%SDR ≤ 5%		CUMPLE	
Exactitud		Z-score ≤ 2		CUMPLE	
Incertidumbre		≤ 30% del Rango bajo		CUMPLE	
Recuperabilidad		80 - 120 %		CUMPLE	
Linealidad		0.99		CUMPLE	
El Método Espectrométrico de Absorción Atómica Electrotrémica para la Detección de Cobre en Aguas Limpias y Residuales se declara validado con las características descritas, para uso en el laboratorio por personal calificado del OSP Área de Química Ambiental.					

4.2. TABLAS DE DATOS EXPERIMENTALES Y CALCULOS DEL VANADIO

4.2.1. Límite de Detección (LD) y Límite de Cuantificación (LC)

Tabla 32 Datos experimentales para la determinación del Límite de Detección y Límite de Cuantificación

BLANCO	BLANCO		CONCENTRACIÓN µg/L
	*H ₂ NO ₃	*H ₂ O	
1	0,2	100	8.052
2	0,2	100	4.980
3	0,2	100	3.976
4	0,2	100	6.514
5	0,2	100	5.631
6	0,2	100	9.767
7	0,2	100	9.364
8	0,2	100	5.540
9	0,2	100	3.256
10	0,2	100	7.429
Media			6.451
Σ			2.186
LD			6.558
LC			21.86

Elaborado por Mayra Vásconez

*el ácido nítrico concentrado y el agua debe ser libre de metales

$$LD = 3 \times \sigma$$

$$LD = 3 \times 2.186$$

$$LD = 6.558$$

$$LC = 10 \times \sigma$$

$$LC = 10 \times 2.186$$

$$LC = 21.86$$

De acuerdo con la guía de validación seguida por el laboratorio OSP, se calculó el límite de detección a partir de la desviación estándar del blanco (matriz libre de metales).

El límite de cuantificación para el intervalo de acreditación del vanadio es de 21.86, cumpliendo con lo establecido por el OSP Área de Ambiental, indicando que a partir de este nivel de concentración se puede cuantificar con exactitud y precisión aceptable.

4.2.2. Repetibilidad (Lr)

Tabla 33 Datos Experimentales para la Determinación de la Repetibilidad en el Punto Uno

X Declarado 25 ppb

Nº	ALICUOTA (ml)	AFORO (ml)	LECTURA (ppb)
1	2,5	100	25,68
2	2,5	100	24,94
3	2,5	100	24,94
4	2,5	100	25,24
5	2,5	100	24,32
6	2,5	100	25,06
7	2,5	100	24,89
8	2,5	100	25,97
9	2,5	100	24,87
10	2,5	100	23,87
Media			24,98
σ			0,60
% SDR			2,40

Elaborado por Mayra Vásquez

Tabla 34 Datos Experimentales para la Determinación de la Repetibilidad en el Punto Dos

X Declarado 50 ppb

Nº	ALICUOTA (ml)	AFORO (ml)	LECTURA (ppb)
1	5,0	100	52,26
2	5,0	100	50,02
3	5,0	100	51,41
4	5,0	100	50,63
5	5,0	100	49,67
6	5,0	100	50,69
7	5,0	100	51,32
8	5,0	100	50,15
9	5,0	100	49,85
10	5,0	100	49,79
Media			50,58
σ			0,85
% SDR			1,69

Elaborado por Mayra Vásquez

Tabla 35 Datos Experimentales para la Determinación de la Repetibilidad en el Punto Tres

X Declarado 75 ppb

Nº	ALICUOTA (ml)	AFORO (ml)	LECTURA (ppb)
1	7,5	100	74,78
2	7,5	100	76,06
3	7,5	100	74,98
4	7,5	100	74,88
5	7,5	100	75,52
6	7,5	100	76,24
7	7,5	100	75,56
8	7,5	100	74,94
9	7,5	100	76,25
10	7,5	100	73,41
Media			75,26
σ			0,86
% SDR			1,15

Elaborado por Mayra Vásconez

Tabla 36 Cálculos estadísticos para la Determinación de la Repetibilidad del Vanadio

	Media	σ	σ_{\max}	σ_{\min}	F _{CALCULADA}	F _{TABULADA}
PUNTO 1	24,98	0,60	0,85	0,60	2,03	3,18
PUNTO 2	50,58	0,85	0,86	0,85	1,02	3,18
PUNTO 3	75,26	0,86	0,86	0,60	2,08	3,18

%SDr	
PUNTO 1	2.40
PUNTO 2	1.69
PUNTO 3	1.15

$$Lr = (\sqrt{2}) * (\sigma \max) * (Zscore)$$

$$Lr = (\sqrt{2}) * (0.86) * (1.960)$$

$$Lr = 2.39 \text{ ppb}$$

Lr	2.35
Lr	2.39

El coeficiente de variación de cada una de las concentraciones fue inferior al 5 % por lo tanto no existe variación significativa entre los datos obtenidos en condiciones de Repetibilidad (mismo analista, mismo día)

La Repetibilidad (Lr) obtenida en el tratamiento estadístico, determina el aseguramiento de los resultados, en aceptar o rechazar los datos cuantificados en condiciones de Repetibilidad.

En el tratamiento estadístico realizado, se puede observar que la F calculada es menor a la F tabulada, lo que quiere decir que es no significativo en el nivel bajo, nivel medio y alto, debido a esto existe un rango de concentración para la cuantificación de vanadio.

4.2.3. Reproducibilidad (LR)

Tabla 37. Datos Experimentales para la Determinación de la Reproducibilidad del Vanadio en el Punto Uno

X Declarado 25 ppb

Nº	Alícuota (ml)	Aforo (ml)	LECTURA
1	2,5	100	25,49
2	2,5	100	24,18
3	2,5	100	24,84
4	2,5	100	24,72
5	2,5	100	26,98
6	2,5	100	23,75
7	2,5	100	25,04
8	2,5	100	23,99
9	2,5	100	25,10
10	2,5	100	25,45
X			24,95
σ			0,93
%SDr			3,71

Elaborado por Mayra Vásquez

Tabla 38. Datos Experimentales para la Determinación de la Reproducibilidad del Vanadio en el Punto Dos

X Declarado 50 ppb

Nº	Alícuota (ml)	Aforo (ml)	MUESTRA
1	5,0	100	51,23
2	5,0	100	52,77
3	5,0	100	48,98
4	5,0	100	54,02
5	5,0	100	50,83
6	5,0	100	52,75
7	5,0	100	50,24
8	5,0	100	50,32
9	5,0	100	50,16
10	5,0	100	50,03
X			51,13
σ			1,56
%SDr			3,06

Elaborado por Mayra Vásquez

Tabla 39. Datos Experimentales para la Determinación de la Reproducibilidad del Vanadio en el Punto Tres

X Declarado 75 ppb

Nº	Alícuota (ml)	Aforo (ml)	LECTURA
1	7,5	100	73,28
2	7,5	100	74,39
3	7,5	100	76,84
4	7,5	100	74,28
5	7,5	100	75,69
6	7,5	100	77,01
7	7,5	100	75,20
8	7,5	100	75,68
9	7,5	100	74,95
10	7,5	100	75,14
X			75,25
σ			1,14
%SDr			1,51

Elaborado por Mayra Vásquez

Tabla 40. Cálculos estadísticos para la Determinación de la Reproducibilidad de vanadio

	Media (ppb)	σ	σ_{\max}	σ_{\min}	F _{CALCULADA}	F _{TABULADA}
PUNTO 1	24,95	0,93	1,56	0,93	2,85	3,18
PUNTO 2	51,13	1,56	1,56	1,14	1,88	3,18
PUNTO 3	75,25	1,14	1,14	0,93	1,51	3,18

%SDr	
PUNTO 1	3,71
PUNTO 2	3,06
PUNTO 3	1,51

$$Lr = (\sqrt{2}) * (\sigma \max) * (Zscore)$$

$$Lr = (\sqrt{2}) * (1.56) * (1.960)$$

$$Lr = 4.33 ppb$$

LR	4,33
LR	3.16

La reproducibilidad (LR) obtenida en el tratamiento estadístico, determina el aseguramiento de los resultados, en aceptar o rechazar los datos cuantificados en condiciones de reproducibilidad (mismo analista, diferentes días).

El coeficiente de variación de cada una de las concentraciones fue inferior al 5 % por lo tanto no existe variación significativa entre los datos hechos por el mismo analista en diferentes días; lo que quiere decir que los resultados son totalmente reproducibles

El tratamiento estadístico realizado a los datos experimentales, se puede observar que la F calculada es menor a la F tabulada, lo que quiere decir que es no significativo, debido a esto se divide en un rango de concentración para la cuantificación del vanadio.

4.2.4. Exactitud

Tabla 41. Datos Teóricos del Material de Referencia Certificado de la Determinación del vanadio

X DECLARADO	1480
S ESTUDIO	68.2

Tabla 42 Datos Experimentales del Material de Referencia Certificado para la Determinación de la Exactitud del Vanadio

No	Lectura (ppb) (FD=50)	Absorbancia	Concentración QCI
1	29,84	0,214	1492
2	32,96	0,241	1648
3	31,01	0,224	1550,5
4	28,32	0,201	1416
Media			1526,63
s			97,88
Z SCORE			0,68

Elaborado por: Mayra Vásquez

Para la determinación de la exactitud se utilizó un material de referencia certificado, cuya concentración es mayor y está fuera de la curva de calibración, para lo cual se realizó una dilución de 50 veces, logrando así que la solución entre en el rango de la curva de calibración.

4.2.5. Cálculo del Z score

$$Z - Score = \frac{\bar{X}_{experimental} - \bar{X}_{certificada}}{S_{certificada}}$$

$$Z - Score = \frac{1526.63 - 1480}{68.2}$$

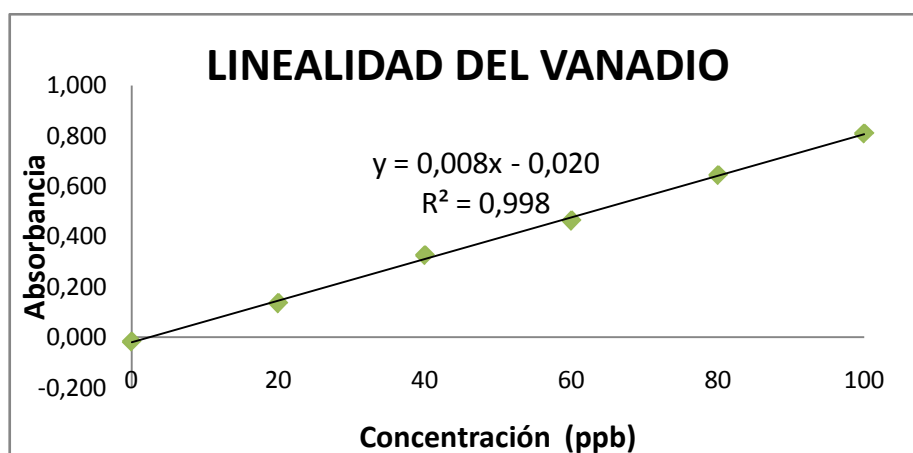
$$Z - Score = 0.68$$

Para la evaluación de la exactitud se utilizó el método del Z-Score, en donde se comparó la media experimental con la media teórica, obteniéndose resultados satisfactorios.

4.2.6. Linealidad

Tabla 43. Cálculo Experimental para la Determinación de la Linealidad del Vanadio⁴

No	Concentración	Lectura	Lectura corregida	d	d ²	dx	dx ²	x ²
1	0,000	-0,017	-0,032	0,015	0,0002322	-50,000	2500	0
2	20,000	0,134	0,135	-0,001	6,24853E-07	-30,000	900	400
3	40,000	0,327	0,302	0,025	0,00063408	-10,000	100	1600
4	60,000	0,462	0,469	-0,007	4,68899E-05	10,000	100	3600
5	80,000	0,643	0,636	0,007	5,07487E-05	30,000	900	6400
6	100,000	0,809	0,803	0,006	3,71519E-05	50,000	2500	10000
				suma	0,001001695	suma	7000	22000



Elaborado por: Mayra Vásquez
 FIGURA 20. Linealidad del Vanadio

Al realizar la curva de calibración se determinó que el método tiene un comportamiento lineal, ya que el coeficiente de correlación es muy cercano a 1, se cumple satisfactoriamente con el criterio de validación, ya que el coeficiente de correlación fue de 0.9994; el mismo que se obtuvo experimentalmente.

⁴ Donde d: Es la diferencia entre la lectura con la corregida en la absorbancia $d = \text{Lectura} - \text{Lectura Corregida}$ $d^2: d^2 = d * d$ $dx: dx = \text{concentración} - \text{valor medio de la concentración}$ $(dx)^2: (dx)^2 = dx * dx$ $X: \text{Concentración}$ $X^2: X^2 = X * X$

Tabla 44. Resultados Calculados de la Linealidad del Vanadio

pendiente	0,0083
intersección	-0,0207
Sy,x	0,01292
Sm	0,00015
Sb	0,00810
R	0,9994
R2	0,9987

Elaborado por: Mayra Vásconez

4.2.7. Recuperabilidad

Tabla 45 Cálculos de la Recuperabilidad del Vanadio

Lectura (ppb) (FD=50)	Absorbancia	Concentración QCI
29,84	0,214	1492
32,96	0,241	1648
31,01	0,224	1550,5
28,32	0,201	1416
Media		1526.63

Elaborado por: Mayra Vásconez

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{X_{\text{obtenido}}}{X_{\text{esperado}}} \times 100$$

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{1516.63}{1480} \times 100$$

$$\% \text{ Recuperación} = 103.15 \%$$

Para demostrar que el método es capaz de determinar el analito se realizaron pruebas de recuperabilidad a través de un Material de Referencia Certificado (MRC), en donde se demostró la exactitud esperada de acuerdo con los requerimientos establecidos por el OAE.

4.2.8. Evaluación de la Incertidumbre Debido a los Equipos de Medida para la Determinación de Vanadio.

Tabla 46. Contribuciones del Tipo A

PRECISIÓN	REPETIBILIDAD	Máxima Desviación Estándar obtenida de todas las muestras tratadas en condiciones de repetibilidad	3.70%
	REPRODUCIBILIDAD	Máxima Desviación Estándar obtenida de todas las muestras tratadas en condiciones de reproducibilidad	
EXACTITUD		Máxima Desviación Estándar obtenido al utilizar materiales de referencia	6.61%

Elaborado por: Mayra Vásquez

Tabla 47. Contribuciones del Tipo B

EQUIPO		INCERTIDUMBRE	Unidades
U FR(CALIBRACION)		12,089	%
BALON AFORADO 100ml	0,1000	0,100	%
Resolución del espectrofotómetro (abs.)	0,0010	0,500	%

Elaborado por: Mayra Vásquez

4.2.9. Cálculo de la Incertidumbre acumulada.

$$\mu^2_{ACUMULADA} = \text{Contribuciones del Tipo A} + \text{Contribuciones del Tipo B}$$

$$\mu_{ACUMULADA} = \sqrt{(3.70)^2 + (6.61)^2 + \left(\frac{12.089}{2}\right)^2 + \left(\frac{0.100}{2}\right)^2 + \left(\frac{0.500}{\sqrt{3}}\right)^2}$$

$$\mu_{ACUMULADA} = 9.70$$

4.2.10. Cálculo de la Incertidumbre expandida.

$$\mu_{EXPANDIDA} = 2 * \mu_{ACUMULADA}$$

$$\mu_{EXPANDIDA} = 19.40$$

4.2.11. Intervalo de Trabajo.

Tabla 48. Rango de Trabajo

U%		
RANGO	21.86 – 51.13	19.40

Elaborado por: Mayra Vásquez

Se determinó la resolución del equipo con lo que se calculó la incertidumbre en ppb que es un dato utilizado para el cálculo de la incertidumbre expandida.

La incertidumbre expandida ($\mu_{EXPANDIDA}$) es 19.40 %, cumpliendo con el valor establecido en los criterios de aceptación de la validación.

La determinación del límite de cuantificación es un parámetro importante ya que a partir de este valor se determinó el intervalo de trabajo con el que se llevó a cabo la investigación

4.2.12. Resumen de la Validación.

RESUMEN DE LA VALIDACION					
Método:	Espectrofotometría de absorción atómica electrotrémica				
Analito:	Vanadio				
Unidades:	µg/l				
Matrices:	Aguas Limpias y Residuales				
SELECTIVIDAD / ESPECIFICIDAD					
LIMITES					
Limites		Valor		Unidades	
De detección:		6.56		ug/l	
De cuantificación:		21.86		ug/l	
PRECISION, EXACTITUD					
Niveles (mg/l)	Repetibilidad		Reproducibilidad		Exactitud
	Lr	% CVr	LR	% CVr	
25	2.40	2.35	3.71	4.33	Zscore = 0.68 %
50	1.69	2.39	3.06	4.33	% Recuperación
75	1.15	2.39	1.51	3.16	
					103.15
INCERTIDUMBRE					
Incertidumbre		Valor		Unidades	
Acumulada:		9.70		%	
Expandida:		19.40		%	
Intervalo de Trabajo:		21.86 – 51.13		ppb	
CRITERIOS DE ACEPTACION Y RECHAZO					
Pendiente:	0.0083				
Ordenada al origen:	-0.0207				
Coefficiente de Correlación, min	0.9994				
Sx,y	0.0.01292				
Repetibilidad	%SDr ≤ 5%			CUMPLE	
Reproducibilidad	%SDR ≤ 5%			CUMPLE	
Exactitud	Z-score ≤ 2			CUMPLE	
Incertidumbre	≤ 30% del Rango bajo			CUMPLE	
Recuperabilidad	80 - 120 %			CUMPLE	
Linealidad	0.99			CUMPLE	
El Método Espectrométrico de Absorción Atómica Electrotrémica para la Detección de Vanadio en Aguas Limpias y Residuales se declara validado con las características descritas, para uso en el laboratorio por personal calificado del OSP					
Área de Química Ambiental.					

CAPITULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- ✓ El método de Espectrofotometría de Absorción Atómica Electrotérmica para la determinación de Cobre y Vanadio en Aguas Limpias y Residuales, cumple con los criterios de aceptación para la validación establecidos por el Laboratorio de Ofertas de Servicios y Productos (OSP) Área de Ambiental de la Facultad de Ciencias Químicas. Por lo tanto el Método se declara como Validado de acuerdo con los resultados de la Tabla N° 49, para dichos metales

Tabla 49. Criterios de aceptación y rechazo de validación

PRUEBAS	CRITERIO	Cumple / No cumple
REPETIBILIDAD	$\%SDr \leq 5\%$	Cumple
REPRODUCIBILIDAD	$\%SDR \leq 5\%$	Cumple
EXACTITUD	$Z\text{-score} \leq 2$	Cumple
INCERTIDUMBRE	$\leq 30\%$ del Rango bajo	Cumple
RECUPERABILIDAD	80 - 120 %	Cumple
LINEALIDAD	0.99	Cumple

Elaborado: Mayra Vásquez

- ✓ Las condiciones de trabajo establecidas para el desarrollo del método son: Temperatura: 17 – 20 °C, Humedad Relativa 40 – 60 % y el material de vidrio utilizado debe estar libre de cualquier tipo de metales así como de rayaduras y marcas de corrosión dada la tendencia de las superficies activas de los materiales a adsorber este tipo de sustancias.
- ✓ El límite de detección del cobre es 1.57 µg/l y su límite de cuantificación es 5.24 µg/l.
- ✓ El intervalo de trabajo para el cobre se estableció mediante el límite de cuantificación obtenido y es de 5.24 a 21.68 µg/l.
- ✓ La función de respuesta del cobre cumple con la linealidad esperada ($Y = mx + b$).
- ✓ La sensibilidad del equipo se determinó a partir de la pendiente de la curva de calibración del cobre (figura 19) y es 0.0113 L/µg.
- ✓ El coeficiente de correlación de la curva de calibración del cobre es 0.9998 cumpliendo como parámetro establecido por el OSP Área de Ambiental.
- ✓ En la determinación de la repetibilidad y reproducibilidad del cobre se analizó el grado de concordancia entre los resultados obtenidos en condiciones de repetibilidad y

reproducibilidad mediante un análisis de varianza, donde se observa (ver Tabla 50) que la $F_{\text{calculada}}$ es menor que la F_{tabulada} en los tres niveles de trabajo y de esta manera se concluye que no existe diferencia significativa de los resultados obtenidos en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad.

Tabla 50 Resultados Estadísticos de la Repetibilidad y Reproducibilidad del Cobre

REPETIBILIDAD				REPRODUCIBILIDAD	
Nivel de trabajo	Concentración (ppb)	$F_{\text{CALCULADA}}$	F_{TABULADA}	$F_{\text{CALCULADA}}$	F_{TABULADA}
1	10,95	2,89	3,18	2,45	3,18
2	21,68	1,51	3,18	1,03	3,18
3	41,45	1,91	3,18	2,53	3,18

Elaborado por Mayra Vásconez

- ✓ La exactitud para el cobre tiene un rango de recuperación del 101.73 %.
- ✓ La incertidumbre expandida (U) es 20.44 %, cumpliendo de esta manera con los criterios de aceptación para la validación del cobre.
- ✓ El método Espectrofotométrico Electrotérmico para la Determinación de Cobre cumple con todos los parámetros establecidos por el laboratorio de Ofertas de Servicios y Productos, por lo que se declara que el método está validado.
- ✓ El límite de detección del vanadio es 6.56 ppb y su límite de cuantificación es 21.86 ppb.
- ✓ El intervalo de trabajo se estableció mediante el límite de cuantificación obtenido para el vanadio es de 21.86 ppb a 51.13 ppb.
- ✓ La función de respuesta para el vanadio cumple con la linealidad esperada ($Y = mx + b$).
- ✓ La sensibilidad del equipo se determinó a partir de la pendiente de la curva de calibración del vanadio (figura 20) y es de 0.0083 L/ μ g
- ✓ El coeficiente de correlación que se determinó en el vanadio es 0.9994 cumpliendo como parámetro establecido por el OSP Área de Ambiental.
- ✓ En la determinación de la repetibilidad y reproducibilidad del vanadio, se analizó el grado de concordancia entre los resultados obtenidos en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad mediante un análisis estadístico, donde se observa (ver Tabla 51) que la $F_{\text{calculada}}$ es menor que la F_{tabulada} en los tres niveles de trabajo y de esta manera se concluye que no existe diferencia significativa de los resultados obtenidos en condiciones de repetibilidad y reproducibilidad.

Tabla 51 Resultados Estadísticos de la Repetibilidad y Reproducibilidad del Vanadio

REPETIBILIDAD				REPRODUCIBILIDAD	
Nivel de trabajo	Concentración (ppb)	F _{CALCULADA}	F _{TABULADA}	F _{CALCULADA}	F _{TABULADA}
1	25,00	2,03	3,18	2,85	3,18
2	50,00	1,02	3,18	1,88	3,18
3	75,00	2,08	3,18	1,51	3,18

. Elaborado por Mayra Vásquez

- ✓ La exactitud del vanadio tiene un rango de recuperación del 103.15 %.
- ✓ La incertidumbre expandida (U) es de 19.40 %, cumple con los criterios de aceptación para la validación del vanadio.
- ✓ El método para la detección de Vanadio cumple con todos los parámetros establecidos por el Laboratorio OSP Área de Ambiental, por lo que se declara que está validado.

5.2. RECOMENDACIONES

- ✓ Para obtener resultados confiables en el equipo de Absorción Atómica Electrotérmica, la lámpara del metal debe llegar a la máxima energía establecida por el fabricante, para esto se debe encender el equipo 30 minutos antes de realizar la curva de calibración y la medición de las muestras.
- ✓ Para una mejor cuantificación del analito se requiere que la señal producida se deba exclusivamente a su presencia y que no exista ninguna interferencia, para esto se debe utilizar agua tipo grado 1 en todas las determinaciones.
- ✓ Se debe contabilizar las mediciones que se realiza en el tubo de grafito ya que este tiende a desgastarse disminuyendo sus propiedades y por consiguiente una disminución en su sensibilidad obteniendo así resultados erróneos, por lo que es recomendable cambiar el tubo cada aproximadamente 100 mediciones.
- ✓ El horno de grafito tiene una alta sensibilidad en el orden de partes por billón por lo que se recomienda que antes de realizar las determinaciones se evalúe la curva de calibración con muestras de concentración conocida verificando de esta manera un buen funcionamiento del equipo, Los reactivos químicos usados en este método deben ser grado reactivo analítico.
- ✓
- ✓ Una característica importante de los analistas es su habilidad para obtener resultados confiables con sus instrumentos. Con este propósito es recomendable calibrar el material volumétrico (buretas, pipetas, matraces, etc.) a fin de medir exactamente los volúmenes

vertidos o contenidos. Esta práctica contribuye a mejorar la técnica para la manipulación de material volumétrico. Se recomienda realizar la calibración del material volumétrico y las balanzas del laboratorio bajo las normas de una institución reconocida por el OAE como es el caso de INEN, de esta manera se reducirá los aportes de error.

- ✓ Todo procedimiento validado se considera válido mientras no se realicen cambios en el procedimiento, por lo que se recomienda que el método validado se encuentre controlado por el laboratorio OSP área de ambiental el mismo que deberá establecer cada cuanto tiempo se revalidarán los procedimientos técnicos de análisis. Por su complejidad y su alto costo, se recomienda que sean revalidadas cuando los cambios realizados afecten de manera directa al método (ejemplo: cambio de equipo, pureza de los reactivos, etc.).

6. BIBLIOGRAFÍA

ATSDR. (2007). Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. Atlanta, GA: Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE. UU.

BEATY, R. y. (1993). *Concepts instrumentation and Techniques in Atomic Absorption Spectrophotometry*. U S A: Perkin Elmer Corporation.

Cortés Colín, R. E. (14 de Febreo de 2008). *Entidad Mejicana de Acreditación S.A.* Recuperado el 16 de Junio de 2011, de Ema : <http://www.udlap.mx/Conoce/video/files/ValidaciondeMetodosdeMedicion.pdf>

EURACHEM. (5 de Marzo de 2005). *DIRECTRIZ PARA VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE ENSAYO*. Recuperado el 18 de Marzo de 2011, de Organismo Uruguayo de acreditación: <http://www.organismouruguayodeacreditacion.org/OUADOC033%20web%20rev1.pdf>

FAO. (2008). ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y ALIMENTACIÓN. *Taller Subregional sobre Aseguramiento de Calidad y Validación de Metodología para Análisis Químicos* , pag. 14.

G.E.I.A. – U.T.N. (15 de octubre de 2009). *Aguas Residuales y Tratamiento de Efluentes Cloacales*. Recuperado el 21 de junio de 2011, de http://www.frbb.utn.edu.ar/carreras/efluentes/tema_9.pdf

Gonzales Perez, C. (2008). *Espectrometria de Absorción Atómica* . Mexico .

LLC, P. I. (2002). *AAAnalyst 200 Users Guide*.

Norma Técnica Ambiental, R. A. (2000).

NUTRIWEB NAVEGA Y APRENDE . (30 de Marzo de 2009). Recuperado el 20 de Junio de 2011, de <http://www.aula21.net/Nutriweb/pagmarco.htm>

PANREAC. (FEBRERO de 2007). *PRACTICAS DE QUIMICA*. Recuperado el 14 de Junio de 2011, de ANÁLISIS CUANTITATIVO POR COLORIMETRÍA: www.panreac.es/spanish/practicas/practicas31.htm

SKOOG, D. A. (1998). *PRINCIPIOS DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL*. McGraw-Hill.

Skoog, D. A., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2008). *PRINCIPIOS DEL ANALISIS INSTRUMENTAL* (SEXTA EDICION ed.). MEXICO: CENGAGE LEARNING.

ANEXOS

**ANEXO 1 PARÁMETROS DE VALIDACIÓN
RECOMENDADOS PARA DIFERENTES
MÉTODOS**

ESPECTROMETRÍA Y CROMATOGRAFÍA

PARÁMETRO	VALIDACIÓN COMPLETA	VALIDACIÓN PARCIAL
Recuperación	*	*
Sensibilidad	*	
Selectividad	*	
Robustez	*	
Limite de detección	*	*
Limite de cuantificación y Limite practico de Cuantificación	*	*
Intervalo de trabajo	*	*
Reproducibilidad	*	*
Repetibilidad	*	*
Sesgo (en algunos casos se evalúa a Partir de la recuperación)	*	*
Incertidumbre	*	*

Fuente: (Cortés Colín, 2008)

VOLUMETRÍA Y GRAVIMETRÍA

PARÁMETRO	VALIDACIÓN COMPLETA	VALIDACIÓN PARCIAL
Recuperación	*	*
Sensibilidad		
Selectividad	*	
Robustez		
Limite de detección	*	
Limite de cuantificación y Limite practico de Cuantificación	*	*
Intervalo de trabajo	*	*
Reproducibilidad	*	*
Repetibilidad	*	*
Sesgo (en algunos casos se evalúa a Partir de la recuperación)	*	*
Incertidumbre	*	*

Fuente: (Cortés Colín, 2008)

POTENCIOMETRÍA Y CONDUCTIMETRÍA.

PARÁMETRO	VALIDACIÓN COMPLETA	VALIDACIÓN PARCIAL
Recuperación		
Sensibilidad		
Selectividad		
Robustez	*	
Limite de detección		
Limite de cuantificación y Limite practico de Cuantificación		
Intervalo de trabajo	*	CONDUCTIVIDAD Intervalo lineal *
		pH Intervalo de trabajo *
Reproducibilidad	*	*
Repetibilidad	*	*
Sesgo (en algunos casos se evalúa a Partir de la recuperación)	*	*
Incertidumbre	*	*

Fuente: (Cortés Colín, 2008)

ANEXO 2 NORMA TÉCNICA DE CALIDAD AMBIENTAL

NORMA TÉCNICA DE CALIDAD AMBIENTAL

Criterios de calidad de aguas para la preservación de flora y fauna en aguas dulces frías o cálidas, y en aguas marinas y de estuarios

Se entiende por uso del agua para preservación de flora y fauna, su empleo en actividades destinadas a mantener la vida natural de los ecosistemas asociados, sin causar alteraciones en ellos, o para actividades que permitan la reproducción, supervivencia, crecimiento, extracción y aprovechamiento de especies bioacuáticas en cualquiera de sus formas, tal como en los casos de pesca y acuicultura.

Los criterios de calidad para la preservación de la flora y fauna en aguas dulces, frías o cálidas, aguas marinas y de estuario, se presentan a continuación

CRITERIOS DE CALIDAD ADMISIBLES PARA LA PRESERVACIÓN DE LA FLORA Y FAUNA EN AGUAS DULCES, FRÍAS O CÁLIDAS, Y EN AGUAS MARINAS Y DE ESTUARIO.

PARÁMETROS	EXPRESADOS COMO	UNIDAD	LÍMITE MÁXIMO PERMISIBLE		
			AGUA FRÍA DULCE	AGUA CÁLIDA DULCE	AGUA MARINA Y DE ESTUARIO
Clorofenoles		mg/l	0,5	0,5	0,5
Bifenilos policlorados/PCBs	Concentración total de PCBs.	mg/l	0,001	0,001	0,001
Oxígeno Disuelto	O.D.	mg/l	No menor al 80% y no menor a 6 mg/l	No menor al 60% y no menor a 5 mg/l	No menor al 60% y no menor a 5 mg/l
Potencial de hidrógeno	pH		6, 5-9	6, 5-9	6, 5-9, 5
Sulfuro de hidrógeno ionizado	H ₂ S	mg/l	0,0002	0,0002	0,0002
Amoniaco	NH ₃	mg/l	0,02	0,02	0,4
Aluminio	Al	mg/l	0,1	0,1	1,5
Arsénico	As	mg/l	0,05	0,05	0,05
Bario	Ba	mg/l	1,0	1,0	1,0
Berilio	Be	mg/l	0,1	0,1	1,5
Boro	B	mg/l	0,75	0,75	5,0
Cadmio	Cd	mg/l	0,001	0,001	0,005
Cianuro Libre	CN ⁻	mg/l	0,01	0,01	0,01
Zinc	Zn	mg/l	0,18	0,18	0,17
Cloro residual	Cl	mg/l	0,01	0,01	0,01
Estaño	Sn	mg/l			2,00
Cobalto	Co	mg/l	0,2	0,2	0,2
Plomo	Pb	mg/l			0,01
Cobre	Cu	mg/l	0,02	0,02	0,05
Cromo total	Cr	mg/l	0,05	0,05	0,05
Fenoles monohídricos	Expresado como fenoles	mg/l	0,001	0,001	0,001
Grasas y aceites	Sustancias solubles en hexano	mg/l	0,3	0,3	0,3
Hierro	Fe	mg/l	0,3	0,3	0,3
Hidrocarburos Totales de Petróleo	TPH	mg/l	0,5	0,5	0,5
Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs)	Concentración total de HAPs	mg/l	0,0003	0,0003	0,0003
Manganeso	Mn	mg/l	0,1	0,1	0,1
Materia flotante	visible		Ausencia	Ausencia	Ausencia

CONTINUACIÓN...

CRITERIOS DE CALIDAD ADMISIBLES PARA LA PRESERVACIÓN DE LA FLORA Y FAUNA EN AGUAS DULCES, FRÍAS O CÁLIDAS, Y EN AGUAS MARINAS Y DE ESTUARIO.

PARÁMETROS	EXPRESADOS COMO	UNIDAD	LÍMITE MÁXIMO PERMISIBLE		
			AGUA FRÍA DULCE	AGUA DULCE CÁLIDA	AGUA MARINA Y DE ESTUARIO
Mercurio	Hg	mg/l	0,0002	0,0002	0,0001
Níquel	Ni	mg/l	0,025	0,025	0,1
Plaguicidas organoclorados totales	Concentración de organoclorados totales	µg/l	10,0	10,0	10,0
Plaguicidas organofosforados totales	Concentración de organofosforados totales	µg/l	10,0	10,0	10,0
Piretroides	Concentración de piretroides totales	mg/l	0,05	0,05	0,05
Plata	Ag	mg/l	0,01	0,01	0,005
Selenio	Se	mg/l	0,01	0,01	0,01
Tensoactivos	Sustancias activas al azul de metileno	mg/l	0,5	0,5	0,5
Temperatura	°C		Condiciones naturales + 3 Máxima 20	Condiciones naturales + 3 Máxima 32	Condiciones naturales + 3 Máxima 32
Coliformes Fecales	nmp/100 ml		200	200	200

Límites máximos permisibles adicionales para la interpretación de la calidad de las aguas.

PARÁMETROS	UNIDAD	LÍMITE MÁXIMO PERMISIBLE	
		AGUA MARINA	AGUA DULCE
Acenaftileno	µg/l	7	2
Acrilonitrilo	µg/l		26
Acroleína	µg/l	0,05	0,2
Antimonio (total)	µg/l		16
Benceno	µg/l	7	300
BHC-ALFA	µg/l		0,01
BHC-BETA	µg/l		0,01
BHC-DELTA	µg/l		0,01

CONTINUACIÓN...

Límites máximos permisibles adicionales para la interpretación de la calidad de las aguas.

PARÁMETROS	UNIDAD	LÍMITE MÁXIMO PERMISIBLE	
		AGUA MARINA	AGUA DULCE
Clorobenceno	µg/l		15
Clorofenol (2-)	µg/l	30	7
Diclorobenceno	µg/l	2	2,5
Diclorobenceno (1,4-)	µg/l		4
Dicloroetano (1,2-)	µg/l	113	200
Dicloroetilenos	µg/l	224	12
Dicloropropanos	µg/l	31	57
Dicloropropenos	µg/l	0,8	2
Difenil Hidrazina (1,2)	µg/l		0,3
Dimetilfenol (2,4-)	µg/l		2
Dodecacloro + Nonacloro	µg/l	0,001	
Etilbenceno	µg/l	0,4	700
Fluoruro total	µg/l	1 400	4
Hexaclorobutadieno	µg/l	0,03	0,1
Hexaclorociclopentadieno	µg/l	0,007	0,05
Naftaleno	µg/l	2	6
Nitritos	µg/l	1 000	60
Nitrobenceno	µg/l	7	27
Nitrofenoles	µg/l	5	0,2
PCB (total)	µg/l	0,03	0,001
Pentaclorobenceno	µg/l		0,03
Pentacloroetano	µg/l	3	4
P-clorometacresol	µg/l		0,03
Talio (total)	µg/l	2	0,4
Tetraclorobenceno (1,2,3,4-)	µg/l		0,1
Tetraclorobenceno (1,2,4,5-)	µg/l		0,15
Tetracloroetano (1,1,2,2-)	µg/l	9	24
Tetracloroetileno	µg/l	5	260
Tetraclorofenoles	µg/l	0,5	1
Tetracloruro de carbono	µg/l	50	35
Tolueno	µg/l	50	300
Toxafeno	µg/l	0,005	0,000
Tricloroetano (1,1,1)	µg/l	31	18
Tricloroetano (1,1,2)	µg/l		94
Tricloroetileno	µg/l	2	45
Uranio (total)	µg/l	500	20
Vanadio (total)	µg/l		100

Además de los parámetros indicados dentro de esta norma, se tendrán en cuenta los siguientes criterios:

La turbiedad de las aguas de estuarios debe ser considerada de acuerdo a los siguientes límites:

Condición natural (Valor de fondo) más 5%, si la turbiedad natural varía entre 0 y 50 UTN (unidad de turbidez nefelométrica);

Condición natural (Valor de fondo) más 10%, si la turbiedad natural varía entre 50 y 100 UTN, y,

Condición natural (Valor de fondo) más 20%, si la turbiedad natural es mayor que 100 UTN;

Ausencia de sustancias antropogénicas que produzcan cambios en color, olor y sabor del agua en el cuerpo receptor, de modo que no perjudiquen a la flora y fauna acuáticas y que tampoco impidan el aprovechamiento óptimo del cuerpo receptor.

ANEXO 3 NORMA APHA, AWWA 3113B

TABLE 3113:II. DETECTION LEVELS AND CONCENTRATION RANGES FOR
ELECTROTHERMAL ATOMIZATION ATOMIC ABSORPTION
SPECTROMETRY

Element	Wavelength nm	Estimated Detection Limit µg/L	Optimum Concentration Range µg/L
Al	309.3	3	20-200
Sb	217.6	3	20-300
As	193.7	1	5-100
Ba	553.6	2	10-200
Be	234.9	0.2	1-30
Cd	228.8	0.1	0.5-10
Cr	357.9	2	5-100
Co	240.7	1	5-100
Cu	324.7	1	5-100
Fe	248.3	1	5-100
Pb*	283.3	1	5-100
Mn	279.5	0.2	1-30
Mo	313.3	1	3-60
Ni	232.0	1	5-100
Se	196.0	2	5-100
Ag	328.1	0.2	1-25
Sn	224.6	5	20-300

*The more sensitive 217.0-nm wavelength is recommended for instruments with background correction capabilities.

for the more refractory elements and are recommended. The optical pyrometer/maximum power accessory available on some instruments also offers increased sensitivity with lower atomization temperatures for many elements.

Using the Stabilized Temperature Platform Furnace (STPF) technique, which is a combination of individual techniques, also offers significant interference reduction with improved sensitivity. Sensitivity changes with sample tube age. Discard graphite tubes when significant variations in sensitivity or poor reproducibility are observed. The use of high acid concentrations, brine samples, and matrix modifiers often drastically reduces tube life. Preferably use the graphite platform in such situations.

5. References

1. PERKIN-ELMER CORP. 1991. Summary of Standard Conditions for Graphite Furnace. Perkin-Elmer Corp., Norwalk, Conn.
2. ROTHIER, E., ed. 1988. Analytical Methods for Graphite Tube Atomizers. Varian Techtron Pty, Ltd., Mulgrave, Victoria, Australia.

6. Bibliography

- FERNANDEZ, F.J. & D.C. MANNING. 1971. Atomic absorption analyses of metal pollutants in water using a heated graphite atomizer. *Atomic Absorption Newsletter* 10:65.
- SEGAR, D.A. & J.G. GONZALEZ. 1972. Evaluation of atomic absorption with a heated graphite atomizer for the direct determination of trace transition metals in sea water. *Anal. Chim. Acta* 58:7.
- BARNARD, W.M. & M.J. FISHMAN. 1973. Evaluation of the use of heated graphite atomizer for the routine determination of trace metals in water. *Atomic Absorption Newsletter* 12:118.
- KAHN, H.L. 1973. The detection of metallic elements in wastes and waters with the graphite furnace. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 3:121.
- WALSH, P.R., J.L. FASCHING & R.A. DUCE. 1976. Matrix effects and their control during the flameless atomic absorption determination of arsenic. *Anal. Chem.* 48:1014.
- HENN, E.L. 1977. Use of Molybdenum in Eliminating Matrix Interferences in Flameless Atomic Absorption. Spec. Tech. Publ. 618, American Soc. Testing & Materials, Philadelphia, Pa.
- MARTIN, T.D. & J.F. KOPP. 1978. Methods for Metals in Drinking Water. U.S. Environmental Protection Agency, Environmental Monitoring and Support Lab., Cincinnati, Ohio.
- HYDES, D.J. 1980. Reduction of matrix effects with a soluble organic acid in the carbon furnace atomic absorption spectrometric determination of cobalt, copper, and manganese in seawater. *Anal. Chem.* 52:289.
- SOTERA, J.J. & H.L. KAHN. 1982. Background correction in AAS. *Amer. Lab.* 14:100.
- SMITH, S.B. & G.M. HIEFTJE. 1983. A new background-correction method for atomic absorption spectrometry. *Appl. Spectrosc.* 37:419.
- GROSSER, Z. 1985. Techniques in Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometry. Perkin-Elmer Corp., Ridgefield, Conn.
- SLAVIN, W. & G.R. CARNICK. 1985. A survey of applications of the stabilized temperature platform furnace and Zeeman correction. *Atomic Spectrosc.* 6:157.
- BRUEGGEMEYER, T. & F. FRICKE. 1986. Comparison of furnace & atomization behavior of aluminum from standard & thorium-treated L'vov platforms. *Anal. Chem.* 58:1143.

3113 B. Electrothermal Atomic Absorption Spectrometric Method

1. General Discussion

This method is suitable for determination of micro quantities of aluminum, antimony, arsenic, barium, beryllium, cadmium, chromium, cobalt, copper, iron, lead, manganese, molybdenum, nickel, selenium, silver, and tin. It is also applicable to analysis of bismuth, gallium, germanium, gold, indium, mercury, tellurium, thallium, and vanadium, but precision and accuracy data are not yet available.

2. Apparatus

- a. *Atomic absorption spectrometer:* See Section 3111A.6a. The instrument must have background correction capability.
- b. *Source lamps:* See Section 3111A.6d.
- c. *Graphite furnace:* Use an electrically heated device with electronic control circuitry designed to carry a graphite tube or cup through a heating program that provides sufficient thermal energy to atomize the elements of interest. Furnace heat control-

lers with only three heating steps are adequate only for fresh waters with low dissolved solids content. For salt waters, brines, and other complex matrices, use a furnace controller with up to seven individually programmed heating steps. Fit the furnace into the sample compartment of the spectrometer in place of the conventional burner assembly. Use argon as a purge gas to minimize oxidation of the furnace tube and to prevent the formation of metallic oxides. Use graphite tubes with platforms to minimize interferences and to improve sensitivity.

d. Readout: See Section 3111A.6c.

e. Sample dispensers: Use microliter pipets (5 to 100 μ L) or an automatic sampling device designed for the specific instrument.

f. Vent: See Section 3111A.6f.

g. Cooling water supply: Cool with tap water flowing at 1 to 4 L/min or use a recirculating cooling device.

h. Membrane filter apparatus: Use an all-glass filtering device and 0.45- μ m or smaller-pore-diameter membrane filters. For trace analysis of aluminum, use polypropylene or TFE devices.

3. Reagents

a. Metal-free water: See Section 3111B.3c.

b. Hydrochloric acid, HCl, 1 + 1 and conc.

c. Nitric acid, HNO₃, 1 + 1 and conc.

d. Matrix modifier stock solutions:

1) *Magnesium nitrate*, 10 000 mg Mg/L: Dissolve 10.5 g Mg(NO₃)₂·6H₂O in water. Dilute to 100 mL.

2) *Nickel nitrate*, 10 000 mg Ni/L: Dissolve 4.96 g Ni(NO₃)₂·6H₂O in water. Dilute to 100 mL.

3) *Phosphoric acid*, 10% (v/v): Add 10 mL conc H₃PO₄ to water. Dilute to 100 mL.

4) *Palladium nitrate*, 4000 mg Pd/L: Dissolve 8.89 g Pd(NO₃)₂·H₂O in water. Dilute to 1 L.

5) *Citric acid*, 4%: Dissolve 40 g citric acid in water. Dilute to 1 L.

NOTE: All of the modifier solutions recommended in Table 3113:1 can be prepared with volumetric combination of the above solutions and water. For preparation of other matrix modifiers, see references or follow manufacturers' instructions.

e. Stock metal solutions: Refer to Sections 3111B and 3114.

f. Chelating resin: 100 to 200 mesh* purified by heating at 60°C in 1N NaOH for 24 h. Cool resin and rinse 10 times each with alternating portions of 1N HCl, metal-free water, 1N NaOH, and metal-free water.

g. Metal-free seawater (or brine): Fill a 1.4-cm-ID \times 20-cm-long borosilicate glass column to within 2 cm of the top with purified chelating resin. Elute resin with successive 50-mL portions of 1N HCl, metal-free water, 1N NaOH, and metal-free water at the rate of 5 mL/min just before use. Pass salt water or brine through the column at a rate of 5 mL/min to extract trace metals present. Discard the first 10 bed volumes (300 mL) of eluate.

4. Procedures

a. Sample pretreatment: Before analysis, pretreat all samples as indicated below. Rinse all glassware with 1 + 1 HNO₃ and water. Carry out digestion procedures in a clean, dust-free laboratory area to avoid sample contamination.

For digestion of trace aluminum, use polypropylene or TFE utensils to avoid leachable aluminum from glassware.

1) *Dissolved metals*—See Section 3030B. For samples requiring arsenic and/or selenium analysis add 3 mL 30% hydrogen peroxide/100 mL sample and an appropriate volume of nickel nitrate solution (see Table 3113:1) before analysis. For all other metals no further pretreatment is required except for adding an optional matrix modifier.

2) *Total recoverable metals (Al, Sb, Ba, Be, Cd, Cr, Co, Cu, Fe, Pb, Mn, Mo, Ni, Ag, and Sn)*—NOTE: Sb and Sn are not recovered unless HCl is used in the digestion. See Section 3030D. Quantitatively transfer digested sample to a 100-mL volumetric flask, add an appropriate amount of matrix modifier (see Table 3113:1), and dilute to volume with water.

3) *Total recoverable metals (As, Se)*—Transfer 100 mL of shaken sample, 1 mL conc HNO₃, and 2 mL 30% H₂O₂ to a clean, acid-washed 250-mL beaker. Heat on a hot plate without allowing solution to boil until volume has been reduced to about 50 mL. Remove from hot plate and let cool to room temperature. Add an appropriate concentration of nickel (see Table 3113:1), and dilute to volume in a 100-mL volumetric flask with water. Substitution of palladium is uneconomical. Nickel may be deleted if palladium is co-added during analysis. Simultaneously prepare a digested blank by substituting water for sample and proceed with digestion as described above.

b. Instrument operation: Mount and align furnace device according to manufacturer's instructions. Turn on instrument and data collection system. Select appropriate light source and adjust to recommended electrical setting. Select proper wavelength and set all conditions according to manufacturer's instructions, including background correction. Background correction is important when elements are determined at short wavelengths or when sample has a high level of dissolved solids. Background correction normally is not necessary at wavelengths longer than 350 nm. If background correction above 350 nm is needed deuterium arc background correction is not useful and other types must be used.

Select proper inert- or sheath-gas flow. In some cases, it is desirable to interrupt the inert-gas flow during atomization. Such interruption results in increased sensitivity by increasing residence time of the atomic vapor in the optical path. Gas interruption also increases background absorption and intensifies interference effects, but modern background correction methods usually eliminate these problems. Consider advantages and disadvantages of this option for each matrix when optimizing analytical conditions.

To optimize graphite furnace conditions, carefully adjust furnace temperature settings to maximize sensitivity and precision and to minimize interferences. Follow manufacturer's instructions.

Use drying temperatures slightly above the solvent boiling point and provide enough time and temperature for complete evaporation without boiling or spattering.

Select atomization temperature by determining the lowest temperature providing maximum sensitivity without significantly eroding precision. Optimize by a series of successive determinations at various atomization temperatures using a standard solution giving an absorbance of 0.2 to 0.5.

The charring temperature must be high enough to maximize volatilization of interfering matrix components yet too low to volatilize the element of interest. With the drying and atomization

* Chelex 100, or equivalent, available from Bio-Rad Laboratories, Richmond, CA.

temperatures set to their optimum values, analyze a standard solution at a series of charring temperatures in increasing increments of 50 to 100°C. When the optimum charring temperature is exceeded, there will be a significant drop in sensitivity. Plot charring temperature versus sample absorbance; the optimum charring temperature is the highest temperature without reduced sensitivity. Verify optimization with major changes in sample matrix.

c. Instrument calibration: Prepare standard solutions for instrument calibration by diluting metal stock solutions. Prepare standard solutions fresh daily.

Prepare a blank and at least three calibration standards in the appropriate concentration range (see Table 3113:II) for correlating element concentration and instrument response. Match the matrix of the standard solutions to those of the samples as closely as possible. In most cases, this simply requires matching the acid

TABLE 3113:III. INTERLABORATORY SINGLE-ANALYST PRECISION DATA FOR ELECTROTHERMAL ATOMIZATION METHODS¹

Element	Concentration μg/L	Single-Analyst Precision % RSD					
		Lab Pure Water	Drinking Water	Surface Water	Effluent 1	Effluent 2	Effluent 3
Al	28	66	108	70	—	—	66
	125	27	35	24	—	—	34
	11 000	11	—	—	22	—	—
	58 300	27	—	—	19	—	—
	460	9	—	—	—	30	—
	2 180	28	—	—	—	4	—
As	10.5	20	13	13	13	56	18
	230	10	18	13	21	94	14
	9.78	40	25	15	74	23	11
	227	10	6	8	11	15	6
Ba	56.5	36	21	29	59	23	27
	418	14	12	20	24	24	18
Be	0.45	18	27	15	30	2	11
	10.9	14	4	9	7	12	12
Cd	0.43	72	49	1	121	35	27
	12	11	17	22	14	11	15
Cr	9.87	24	33	10	23	15	10
	236	16	7	11	13	16	7
Co	29.7	10	17	10	19	24	12
	420	8	11	13	14	9	5
Cu	10.1	49	47	17	17	—	30
	234	8	15	6	21	—	11
	300	6	—	—	—	11	—
Fe	1 670	11	—	—	—	6	—
	26.1	144	52	153	—	—	124
	455	48	37	45	—	—	31
	1 030	17	—	—	30	—	—
	5 590	6	—	—	32	—	—
	370	14	—	—	—	19	—
Pb	2 610	9	—	—	—	18	—
	10.4	6	19	17	21	19	33
	243	17	7	17	18	12	16
Mn	0.44	187	180	—	—	—	275
	14.8	32	19	—	—	—	18
	91.0	15	—	—	48	—	—
	484.0	4	—	—	12	—	—
	111.0	12	—	—	—	21	—
Ni	666.0	6	—	—	—	20	—
	26.2	20	26	25	24	18	9
	461.0	15	11	9	8	11	4
Se	10.0	12	27	16	35	41	13
	235.0	6	6	15	6	13	14
Ag	8.48	10	—	—	15	27	16
	56.5	14	—	—	7	16	23
	0.45	27	166	48	—	—	—
	13.6	15	4	10	—	—	—

background of the samples. For seawaters or brines, however, use the metal-free matrix (1 g) as the standard solution diluent. In addition, add the same concentration of matrix modifier (if required for sample analysis) to the standard solutions.

Inject a suitable portion of each standard solution, in order of increasing concentration. Analyze each standard solution in triplicate to verify method precision.

Construct an analytical curve by plotting the average peak absorbances or peak areas of the standard solution versus concen-

tration on linear graph paper. Alternatively, use electronic instrument calibration if the instrument has this capability.

d. *Sample analysis:* Analyze all samples except those demonstrated to be free of matrix interferences (based on recoveries of 85% to 115% for known additions) using the method of standard additions. Analyze all samples at least in duplicate or until reproducible results are obtained. A variation of $\leq 10\%$ is considered acceptable reproducibility. Average replicate values.

TABLE 3113.IV. INTERLABORATORY OVERALL PRECISION DATA FOR ELECTROTHERMAL ATOMIZATION METHODS¹

Element	Concentration $\mu\text{g/L}$	Overall Precision % RSD					
		Lab Pure Water	Drinking Water	Surface Water	Effluent 1	Effluent 2	Effluent 3
Al	28	99	114	124	—	—	131
	125	45	47	49	—	—	40
	11 000	19	—	—	43	—	—
	58 300	31	—	—	32	—	—
	460	20	—	—	—	47	—
	2 180	30	—	—	—	15	—
As	10.5	37	19	22	50	103	39
	230	26	16	16	17	180	21
	9.78	43	26	37	72	50	39
Ba	227	18	12	13	20	15	14
	56.5	68	38	43	116	43	65
Be	418	35	35	28	38	48	16
	0.45	28	31	15	67	50	35
Cd	10.9	33	15	26	20	9	19
	0.43	73	60	5	88	43	65
Cr	12	19	25	41	26	20	27
	9.87	30	53	24	60	41	23
Co	236	18	14	24	20	14	20
	29.7	13	26	17	18	21	17
Cu	420	21	21	17	18	13	13
	10.1	58	82	31	32	—	74
	234	12	33	19	21	—	26
Fe	300	13	—	—	—	14	—
	1 670	12	—	—	—	13	—
	26.1	115	93	306	—	—	204
	455	53	46	53	—	—	44
	1 030	32	—	—	25	—	—
	5 590	10	—	—	43	—	—
Pb	370	28	—	—	—	22	—
	2 610	13	—	—	—	22	—
	10.4	27	42	31	23	28	47
Mn	243	18	19	17	19	19	25
	0.44	299	272	—	—	—	248
	14.8	52	41	—	—	—	29
Ni	91.0	16	—	—	45	—	—
	484.0	5	—	—	17	—	—
	111.0	15	—	—	—	17	—
	666.0	8	—	—	—	24	—
	26.2	35	30	49	35	37	43
Se	461.0	23	22	15	12	21	17
	10.0	17	48	32	30	44	51
	235.0	16	18	18	17	22	34
Ag	8.48	23	—	—	16	35	34
	56.5	15	—	—	24	32	28
	0.45	57	90	368	—	—	—
	13.6	19	19	59	—	—	—

1) Direct determination—Inject a measured portion of pre-treated sample into the graphite furnace. Use the same volume as was used to prepare the calibration curve. Usually add modifier immediately after the sample, preferably using an automatic sampler or a micropipet. Some methods require modifier to be injected before the sample. Use the same volume and concentration of modifier for all standards and samples. Dry, char, and atomize according to the preset program. Repeat until reproducible results are obtained.

Compare the average absorbance value or peak area to the calibration curve to determine concentration of the element of interest. Alternatively, read results directly if the instrument is equipped with this capability. If absorbance (or concentration) or peak area of the sample is greater than absorbance (concentration) or peak area of the most concentrated standard solution, dilute sample and reanalyze. If very large dilutions are required, another technique (e.g., flame AA or ICP) may be more suitable for this sample. Large dilution factors magnify small errors on final cal-

TABLE 3113:V. INTERLABORATORY RELATIVE ERROR DATA FOR ELECTROTHERMAL ATOMIZATION METHODS¹

Element	Concentration μg/L	Relative Error %				
		Lab Pure Water	Drinking Water	Surface Water	Effluent 1	Effluent 2
Al	28.0	86	150	54	—	—
	125.0	4	41	39	—	—
	11 000.0	2	—	—	14	—
	58 300.0	12	—	—	7	—
	460.0	2	—	—	—	11
Sb	2 180.0	11	—	—	—	9
	10.5	30	32	28	24	28
	230.0	35	14	19	13	73
As	9.78	36	1	22	106	13
	227.0	3	7	10	19	6
Ba	56.5	132	54	44	116	59
	418.0	4	0	0	13	6
Be	0.45	40	16	11	16	10
	10.9	13	2	9	7	8
Cd	0.43	58	45	37	66	16
	12.0	4	6	5	22	18
Cr	9.87	10	9	4	2	5
	236.0	11	0	9	13	5
Co	29.7	7	7	1	6	3
	420.0	12	8	8	11	5
Cu	10.1	16	48	2	5	—
	234.0	8	7	0	4	—
Fe	300.0	4	—	—	—	21
	1 670.0	6	—	—	—	2
Fe	26.1	85	60	379	—	—
	455.0	43	22	31	—	—
Fe	1 030.0	8	—	—	8	—
	5 590.0	2	—	—	12	—
Pb	370.0	4	—	—	—	11
	2 610.0	35	—	—	—	2
Pb	10.4	16	10	17	1	34
	243.0	5	15	8	18	15
Mn	0.44	332	304	—	—	—
	14.8	10	1	—	—	—
Mn	91.0	31	—	—	10	—
	484.0	42	—	—	4	—
Ni	111.0	1	—	—	—	29
	666.0	6	—	—	—	23
Ni	26.2	9	16	10	7	33
	461.0	15	19	18	31	16
Se	10.0	12	9	6	36	17
	235.0	7	7	0	13	10
Ag	8.48	12	—	—	1	51
	56.5	16	—	—	8	51
Ag	0.45	34	162	534	—	—
	13.6	3	12	5	—	—

culation. Keep acid background and concentration of matrix modifier (if present in the solutions) constant. Dilute the sample in a blank solution of acid and matrix modifiers.

Proceed to ¶ 5a below.

2) Method of standard additions—Refer to ¶ 4c above. The method of standard additions is valid only when it falls in the linear portion of the calibration curve. Once instrument sensitivity has been optimized for the element of interest and the linear range for the element has been established, proceed with sample analyses.

Inject a measured volume of sample into furnace device. Dry, char or ash, and atomize samples according to preset program. Repeat until reproducible results are obtained. Record instrument response in absorbance or concentration as appropriate. Add a known concentration of the element of interest to a separate portion of sample so as not to change significantly the sample volume. Repeat the determination.

Add a known concentration (preferably twice that used in the first addition) to a separate sample portion. Mix well and repeat the determination.

Using linear graph paper, plot average absorbance or instrument response for the sample and the additions on the vertical axis against the concentrations of the added element on the horizontal axis, using zero as the concentration for the sample. Draw a straight line connecting the three points and extrapolate to zero absorbance. The intercept at the horizontal axis is the negative of the element concentration in the sample. The concentration axis to the left of the origin should be a mirror image of the axis to the right.

5. Calculations

a. Direct determination:

$$\mu\text{g metal/L} = C \times F$$

where:

C = metal concentration as read directly from the instrument or from the calibration curve, $\mu\text{g/L}$, and
 F = dilution factor.

b. Method of additions:

$$\mu\text{g metal/L} = C \times F$$

where:

C = metal concentration as read from the method of additions plot, $\mu\text{g/L}$, and
 F = dilution factor.

6. Precision and Bias

Data typical of the precision and bias obtainable are presented in Tables 3113:III, IV, and V.

7. Quality Control

See Section 3020 for specific quality control procedures to be followed during analysis. Although previous indications were that very low optimum concentration ranges were attainable for most metals (see Table 3113:II), data in Table 3113:III using variations of these protocols show that this may not be so. Exercise extreme care when applying this method to the lower concentration ranges. Verify analyst precision at the beginning of each analytical run by making triplicate analyses. Verify autosampler precision by checking volumes (by weight) delivered by the autosampler at routinely used injection volume settings.

8. Reference

1. COPELAND, T.R. & J.P. MANEY. 1986. EPA Method Study 31: Trace Metals by Atomic Absorption (Furnace Techniques). EPA-600/S4-85-070, U.S. Environmental Protection Agency, Environmental Monitoring and Support Lab., Cincinnati, Ohio.

9. Bibliography

- RENSHAW, G.D. 1973. The determination of barium by flameless atomic absorption spectrophotometry using a modified graphite tube atomizer. *Atomic Absorption Newsletter* 12:158.
- YANAGISAWA, M., T. TAKEUCHI & M. SUZUKI. 1973. Flameless atomic absorption spectrometry of antimony. *Anal. Chim. Acta* 64:381.
- RATTONETTI, A. 1974. Determination of soluble cadmium, lead, silver and indium in rainwater and stream water with the use of flameless atomic absorption. *Anal. Chem.* 46:739.
- HENN, E.L. 1975. Determination of selenium in water and industrial effluents by flameless atomic absorption. *Anal. Chem.* 47:428.
- MARTIN, T.D. & J.F. KOPP. 1975. Determining selenium in water, wastewater, sediment and sludge by flameless atomic absorption spectrometry. *Atomic Absorption Newsletter* 14:109.
- MARUTA, T., K. MINEGISHI & G. SUDOH. 1976. The flameless atomic absorption spectrometric determination of aluminum with a carbon atomization system. *Anal. Chim. Acta* 81:313.
- CRANSTON, R.E. & J.W. MURRAY. 1978. The determination of chromium species in natural waters. *Anal. Chim. Acta* 99:275.
- HOFFMEISTER, W. 1978. Determination of iron in ultrapure water by atomic absorption spectroscopy. *Z. Anal. Chem.* 50:289.
- LAGAS, P. 1978. Determination of beryllium, barium, vanadium and some other elements in water by atomic absorption spectrometry with electrothermal atomization. *Anal. Chim. Acta* 98:261.
- CARRONDO, M.J.T., J.N. LESTER & R. PERRY. 1979. Electrothermal atomic absorption determination of total aluminum in waters and waste waters. *Anal. Chim. Acta* 111:291.
- NAKAHARA, T. & C.L. CHAKRABARTI. 1979. Direct determination of traces of molybdenum in synthetic sea water by atomic absorption spectrometry with electrothermal atomization and selective volatilization of the salt matrix. *Anal. Chim. Acta* 104:99.
- TIMINAGA, M. & Y. UMEZAKI. 1979. Determination of submicrogram amounts of tin by atomic absorption spectrometry with electrothermal atomization. *Anal. Chim. Acta* 110:55.

ANEXO 4 TABLA DE DISTRIBUCIÓN F DE FISHER

Tabla 5. VALORES F DE LA DISTRIBUCION F DE FISHER

1 - $\alpha = 0.95$

v_1 = grados de libertad del numerador

1 - $\alpha = P (F \leq f_{\alpha, v_1, v_2})$

v_2 = grados de libertad del denominador

$v_2 \backslash v_1$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	161.446	199.499	215.707	224.583	230.160	233.988	236.767	238.884	240.543	241.882	242.981	243.905	244.690	245.363	245.949	246.466	246.917	247.324	247.688	248.016
2	18.513	19.000	19.164	19.247	19.296	19.329	19.353	19.371	19.385	19.396	19.405	19.412	19.419	19.424	19.429	19.433	19.437	19.440	19.443	19.446
3	10.128	9.552	9.277	9.117	9.013	8.941	8.887	8.845	8.812	8.785	8.763	8.745	8.729	8.715	8.703	8.692	8.683	8.675	8.667	8.660
4	7.709	6.944	6.591	6.388	6.256	6.163	6.094	6.041	5.999	5.964	5.936	5.912	5.891	5.873	5.858	5.844	5.832	5.821	5.811	5.803
5	6.608	5.786	5.409	5.192	5.050	4.950	4.876	4.818	4.772	4.735	4.704	4.678	4.655	4.636	4.619	4.604	4.590	4.579	4.568	4.558
6	5.987	5.143	4.757	4.534	4.387	4.284	4.207	4.147	4.099	4.060	4.027	4.000	3.976	3.956	3.938	3.922	3.908	3.896	3.884	3.874
7	5.591	4.737	4.347	4.120	3.972	3.866	3.787	3.726	3.677	3.637	3.603	3.575	3.550	3.529	3.511	3.494	3.480	3.467	3.455	3.445
8	5.318	4.459	4.066	3.838	3.688	3.581	3.500	3.438	3.388	3.347	3.313	3.284	3.259	3.237	3.218	3.202	3.187	3.173	3.161	3.150
9	5.117	4.256	3.863	3.633	3.482	3.374	3.293	3.230	3.179	3.137	3.102	3.073	3.048	3.025	3.006	2.989	2.974	2.960	2.948	2.936
10	4.965	4.103	3.708	3.478	3.326	3.217	3.135	3.072	3.020	2.978	2.943	2.913	2.887	2.865	2.845	2.828	2.812	2.798	2.785	2.774
11	4.844	3.982	3.587	3.357	3.204	3.095	3.012	2.948	2.896	2.854	2.818	2.788	2.761	2.739	2.719	2.701	2.685	2.671	2.658	2.646
12	4.747	3.885	3.490	3.259	3.106	2.996	2.913	2.849	2.796	2.753	2.717	2.687	2.660	2.637	2.617	2.599	2.583	2.568	2.555	2.544
13	4.667	3.806	3.411	3.179	3.025	2.915	2.832	2.767	2.714	2.671	2.635	2.604	2.577	2.554	2.533	2.515	2.499	2.484	2.471	2.459
14	4.600	3.739	3.344	3.112	2.958	2.848	2.764	2.699	2.646	2.602	2.565	2.534	2.507	2.484	2.463	2.445	2.428	2.413	2.400	2.388
15	4.543	3.682	3.287	3.056	2.901	2.790	2.707	2.641	2.588	2.544	2.507	2.475	2.448	2.424	2.403	2.385	2.368	2.353	2.340	2.328
16	4.494	3.634	3.239	3.007	2.852	2.741	2.657	2.591	2.538	2.494	2.456	2.424	2.397	2.373	2.352	2.333	2.317	2.302	2.288	2.276
17	4.451	3.592	3.197	2.965	2.810	2.699	2.614	2.548	2.494	2.450	2.413	2.381	2.353	2.329	2.308	2.289	2.272	2.257	2.243	2.230
18	4.414	3.555	3.160	2.928	2.773	2.661	2.577	2.510	2.456	2.412	2.374	2.342	2.314	2.290	2.269	2.250	2.233	2.217	2.203	2.191
19	4.381	3.522	3.127	2.895	2.740	2.628	2.544	2.477	2.423	2.378	2.340	2.308	2.280	2.256	2.234	2.215	2.198	2.182	2.168	2.155
20	4.351	3.493	3.098	2.866	2.711	2.599	2.514	2.447	2.393	2.348	2.310	2.278	2.250	2.225	2.203	2.184	2.167	2.151	2.137	2.124
21	4.325	3.467	3.072	2.840	2.685	2.573	2.488	2.420	2.366	2.321	2.283	2.250	2.222	2.197	2.176	2.156	2.139	2.123	2.109	2.096
22	4.301	3.443	3.048	2.817	2.661	2.549	2.464	2.397	2.342	2.297	2.259	2.226	2.198	2.173	2.151	2.131	2.114	2.098	2.084	2.071
23	4.279	3.422	3.028	2.796	2.640	2.528	2.442	2.375	2.320	2.275	2.236	2.204	2.175	2.150	2.128	2.109	2.091	2.075	2.061	2.048
24	4.260	3.403	3.009	2.776	2.620	2.508	2.423	2.355	2.300	2.255	2.216	2.183	2.155	2.130	2.108	2.088	2.070	2.054	2.040	2.027
25	4.242	3.385	2.991	2.759	2.603	2.490	2.405	2.337	2.282	2.236	2.198	2.165	2.136	2.111	2.089	2.069	2.051	2.035	2.021	2.007
26	4.225	3.369	2.975	2.743	2.587	2.474	2.388	2.321	2.265	2.220	2.181	2.148	2.119	2.094	2.072	2.052	2.034	2.018	2.003	1.990
27	4.210	3.354	2.960	2.728	2.572	2.459	2.373	2.305	2.250	2.204	2.166	2.132	2.103	2.078	2.056	2.036	2.018	2.002	1.987	1.974
28	4.196	3.340	2.947	2.714	2.558	2.445	2.359	2.291	2.236	2.190	2.151	2.118	2.089	2.064	2.041	2.021	2.003	1.987	1.972	1.959
29	4.183	3.328	2.934	2.701	2.545	2.432	2.346	2.278	2.223	2.177	2.138	2.104	2.075	2.050	2.027	2.007	1.989	1.973	1.958	1.945
30	4.171	3.316	2.922	2.690	2.534	2.421	2.334	2.266	2.211	2.165	2.126	2.092	2.063	2.037	2.015	1.995	1.976	1.960	1.945	1.932
40	4.085	3.232	2.839	2.606	2.449	2.336	2.249	2.180	2.124	2.077	2.038	2.003	1.974	1.948	1.924	1.904	1.885	1.868	1.853	1.839
50	4.034	3.183	2.790	2.557	2.400	2.286	2.199	2.130	2.073	2.026	1.986	1.952	1.921	1.895	1.871	1.850	1.831	1.814	1.798	1.784
60	4.001	3.150	2.758	2.525	2.368	2.254	2.167	2.097	2.040	1.993	1.952	1.917	1.887	1.860	1.836	1.815	1.796	1.778	1.763	1.748
70	3.978	3.128	2.736	2.503	2.346	2.231	2.143	2.074	2.017	1.969	1.928	1.893	1.863	1.836	1.812	1.790	1.771	1.753	1.737	1.722
80	3.960	3.111	2.719	2.486	2.329	2.214	2.126	2.056	1.999	1.951	1.910	1.875	1.845	1.817	1.793	1.772	1.752	1.734	1.718	1.703
90	3.947	3.098	2.706	2.473	2.316	2.201	2.113	2.043	1.986	1.938	1.897	1.861	1.830	1.803	1.779	1.757	1.737	1.720	1.703	1.688
100	3.936	3.087	2.696	2.463	2.305	2.191	2.103	2.032	1.975	1.927	1.886	1.850	1.819	1.792	1.768	1.746	1.726	1.708	1.691	1.676
200	3.888	3.041	2.650	2.417	2.259	2.144	2.056	1.985	1.927	1.878	1.837	1.801	1.769	1.742	1.717	1.694	1.674	1.656	1.639	1.623
500	3.860	3.014	2.623	2.390	2.232	2.117	2.028	1.957	1.899	1.850	1.808	1.772	1.740	1.712	1.686	1.664	1.643	1.625	1.607	1.592
1000	3.851	3.005	2.614	2.381	2.223	2.108	2.019	1.948	1.889	1.840	1.798	1.762	1.730	1.702	1.676	1.654	1.633	1.614	1.597	1.581

Elaborada por Irene Patricia Valdez y Alfaro.

ANEXO 5 CERTIFICADOS DE PATRONES PRIMARIOS DE ANALISIS

125 Market Street
New Haven, CT 06513
USA



AccuStandard, Inc.

Tel (203)786-5290
Fax (203)786-5287
Website AccuStandard.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

AccuTrace™ Reference Standard

Item Number: AA15N-1

Element: Copper

Lot Number: B8115111

Matrix: 2-5% Nitric acid

Expiration Date: Dec / 2013

Actual Lot Analysis

Copper 1000 µg/mL

The total maximum uncertainty on the certified value(s) is $\pm 2\%$. See reverse side of certificate for details.

The concentration of the final solution was verified by ICP against NIST SRM# 3114

RESULTS: This solution standard was certified for accuracy of major elemental constituency via methodology traceable to primary or well characterized secondary standards. All trace level elements and impurities were determined via plasma emission spectroscopy on the concentrate.

This standard was prepared gravimetrically to contain the elemental concentrations shown above. Balances, used in the preparation, are calibrated regularly using NIST-traceable weights. All glassware is Class A.

Use good laboratory procedure when diluting this product. Shake bottle prior to use and do not pipette directly out of the bottle. Use only cleaned Class A volumetric glassware.

We certify the accuracy of this standard to be $\pm 0.5\%$ of the stated value until the expiration date listed above, provided it is kept tightly capped and stored under normal laboratory conditions.

L. Snyder
Lydia Snyder
Inorganic QC Supervisor

AccuStandard is accredited to ISO/IEC 17025:2005 and certified to ISO 9001:2000

OR-ORG/IND-001
Rev. 9/08

CERTIFICATION REPORT

1. Quality Documentation: This certificate is designed in accordance with ISO Guide 31 (Reference Materials – Contents of Certificates and Labels) and ISO Guide 35 (Reference Materials – General and Statistical Principles for Certification).

2. Quality Standards:

ISO 9001:2000 Quality Management System – Requirements,
Eagle Registrations Certificate No. 3774



ISO 17025:2005 General Requirements for the Competence of
Testing and Calibration Laboratories AClass Certificate No. AT-1339



3. Intended Use: The product covered by this certificate is designed for calibration or for use in quality control procedures for the specified chemical compounds listed on the reverse side. This product can be used for quantification and/or identification. This product can also be used as a reference material to validate analytical procedures, subject to the conditions under Section 11.
4. Raw Materials: Reference standards are prepared from the highest quality starting materials with defined purities. All analytes and solvents are obtained from pre-qualified vendors and then analyzed or evaluated prior to use.
5. Manufacturing: All balances are calibrated daily using an in-house procedure with weights that are compared annually to master weights and traceable to NIST. The balances are also calibrated annually by an ISO 17025 accredited calibration laboratory. Please refer to the NIST test number listed on the front of this certificate. Class A glassware is used in the manufacture and quality control of all standards and calibrated using an in-house procedure.
6. Homogeneity Assessment: Homogeneity of the finished product is assessed by analyzing sample batches or by other methods consistent with the intended use of the product and by procedures that comply with the appropriate Quality System requirements.
7. Stability Assessment: The manufacturer guarantees the stability of this solution through the expiration date stated on the label, when handled and stored according to the conditions stated on the label. To ensure a uniform solution, mix the contents of the sealed container thoroughly prior to use. Care should be taken not to contaminate the contents of the original container.
8. Analytical Quality Control: Products are tested by validated analytical methods specified in the manufacturer's quality system.
9. Uncertainty Statistics and Confidence Limits: The uncertainty values as stated on the face of this certificate have been determined using the EURACHEM/CITAC Guide (Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement). We have evaluated both Type A (based on a series of observations) and Type B (manufacturers specifications and calibration data) factors and report a combined expanded uncertainty equal to the positive square root of the total variance of the uncertainty of the components using the following formula: $u_m = \sqrt{(u(P))^2 + (u(m))^2 + (u(V))^2}$. The expanded uncertainty, U, assumes a normal distribution and a coverage factor of k=2 is chosen using a 95% confidence level.
10. Warranties: The manufacturer warrants that its products shall conform to the description of such products as provided in its catalog or on the specific product label. This warranty is exclusive, and the manufacturer makes no other warranty, express or implied, including any implied warranty of merchantability or fitness for any particular purpose.
11. Legal Notice and Limit of Liability: This product is for routine laboratory analysis and research purposes only. Due to the hazardous nature, only trained personnel should handle this product. The company's liability will be limited to replacement of product or refund of purchase price. Notice of claims must be made within thirty (30) days from date of delivery.

125 Mariet Street
New Haven, CT 06510 USA



AccuStandard, Inc.

Tel (203) 788-5290 Fax (203) 788-5287
Web: AccuStandard.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

AccuTrace™ Reference Standard

Item Number: AA67N-1

Element: Vanadium

Lot Number: B7105089

Matrix: 5-10% Nitric acid

Expiration Date: Nov / 2012

Actual Lot Analysis

Vanadium 1000 µg/mL

The total maximum uncertainty on the certified value(s) is $\pm 2\%$. See reverse side of certificate for details.

The concentration of the final solution was verified by JCP against NIST SRM# 3165.

RESULTS: This solution standard was certified for accuracy of major elemental constituency via methodology traceable to primary or well characterized secondary standards. All trace level elements and impurities were determined via plasma emission spectroscopy on the concentrate.

This standard was prepared gravimetrically to contain the elemental concentrations shown above. Balances, used in the preparation, are calibrated regularly using NIST-traceable weights. All glassware is Class A.

Use good laboratory procedure when diluting this product. Shake bottle prior to use and do not pipette directly out of the bottle. Use only cleaned Class A volumetric glassware.

We certify the accuracy of this standard to be $\pm 0.5\%$ of the stated value until the expiration date listed above, provided it is kept tightly capped and stored under normal laboratory conditions.

L. Snyder
Lydia Snyder
Inorganic QC Supervisor

AccuStandard is accredited to ISO/IEC 17025:2005

OR-0000000001
Rev. 7/01

CERTIFICATION REPORT

1. Quality Documentation: This certificate is designed in accordance with ISO Guide 31 (Reference Materials – Contents of Certificates and Labels) and ISO Guide 35 (Reference Materials – General and Statistical Principles for Certification).

2. Quality Standards:

ISO 9001:2000 Quality Management System – Requirements,
Eagle Registrations Certificate No. 3774



ISO 17025:2005 General Requirements for the Competence of
Testing and Calibration Laboratories AClass Certificate No. AT-1339



3. Intended Use: The product covered by this certificate is designed for calibration or for use in quality control procedures for the specified chemical compounds listed on the reverse side. This product can be used for quantification and/or identification. This product can also be used as a reference material to validate analytical procedures, subject to the conditions under Section 11.
4. Raw Materials: Reference standards are prepared from the highest quality starting materials with defined purities. All analytes and solvents are obtained from pre-qualified vendors and then analyzed or evaluated prior to use.
5. Manufacturing: All balances are calibrated daily using an in-house procedure with weights that are compared annually to master weights and traceable to NIST. The balances are also calibrated annually by an ISO 17025 accredited calibration laboratory. Please refer to the NIST test number listed on the front of this certificate. Class A glassware is used in the manufacture and quality control of all standards and calibrated using an in-house procedure.
6. Homogeneity Assessment: Homogeneity of the finished product is assessed by analyzing sample batches or by other methods consistent with the intended use of the product and by procedures that comply with the appropriate Quality System requirements.
7. Stability Assessment: The manufacturer guarantees the stability of this solution through the expiration date stated on the label, when handled and stored according to the conditions stated on the label. To ensure a uniform solution, mix the contents of the sealed container thoroughly prior to use. Care should be taken not to contaminate the contents of the original container.
8. Analytical Quality Control: Products are tested by validated analytical methods specified in the manufacturer's quality system.
9. Uncertainty Statistics and Confidence Limits: The uncertainty values as stated on the face of this certificate have been determined using the EURACHEM/CITAC Guide (Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement). We have evaluated both Type A (based on a series of observations) and Type B (manufacturers specifications and calibration data) factors and report a combined expanded uncertainty equal to the positive square root of the total variance of the uncertainty of the components using the following formula: $u_m = \sqrt{(u(P))^2 + (u(m))^2 + (u(V))^2}$. The expanded uncertainty, U, assumes a normal distribution and a coverage factor of k=2 is chosen using a 95% confidence level.
10. Warranties: The manufacturer warrants that its products shall conform to the description of such products as provided in its catalog or on the specific product label. This warranty is exclusive, and the manufacturer makes no other warranty, express or implied, including any implied warranty of merchantability or fitness for any particular purpose.
11. Legal Notice and Limit of Liability: This product is for routine laboratory analysis and research purposes only. Due to the hazardous nature, only trained personnel should handle this product. The company's liability will be limited to replacement of product or refund of purchase price. Notice of claims must be made within thirty (30) days from date of delivery.



Certificate of Analysis

Trace Metals 1 - WP

Certified Reference Material

Number QCI-034-1

Lot 016276

Solvent (Matrix) Water, 5% Nitric

Hazard Toxic, Corrosive

Storage & Handling Store at room temperature, 18 to 20°C.

Expiration Date See Sample Label

Certification Date: 8/3/2010

Certified By:

Christopher Rucinski - QA Director

Certified Values

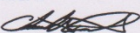
Certified Values			Assigned ^{1,5} (Gravimetric) Value	Certified ⁷ (Assay) Value	k ⁶
Analyte	Units				
Arsenic, As ₁₀₁₀	Traceable to: NIST SRM 3103a Lot 010713	µg/L	770 ± 7.86	748 ± 4.73	1.96
Beryllium, Be ₁₀₂₀	Traceable to: NIST SRM 3105a	µg/L	241 ± 2.46	237 ± 2.51	1.96
Cadmium, Cd ₁₀₃₀	Traceable to: NIST SRM 3108 Lot 060531	µg/L	60.2 ± 0.62	59.7 ± 0.712	1.96
Chromium, Cr (total) ₁₀₄₀	Traceable to: NIST SRM 3112a Lot 990607	µg/L	412 ± 4.20	415 ± 3.13	1.96
Cobalt, Co ₁₀₅₀	Traceable to: NIST SRM 3113 Lot 000630	µg/L	327 ± 3.34	324 ± 2.42	1.96
Copper, Cu ₁₀₅₅	Traceable to: NIST SRM 3114 Lot 891811	µg/L	80.9 ± 0.82	78.3 ± 0.593	1.96
Iron, Fe ₁₀₇₀	Traceable to: NIST SRM 3126a Lot 051031	µg/L	2880 ± 29.40	2900 ± 25.5	1.96
Lead, Pb ₁₀₇₅	Traceable to: NIST SRM 3128 Lot 030721	µg/L	1720 ± 17.56	1720 ± 8.62	1.96
Lithium, Li ₁₀₈₀	Traceable to: NIST SRM 3129a	µg/L	452 ± 4.60	462 ± 4.31	2.16
Manganese, Mn ₁₀₉₀	Traceable to: NIST SRM 3132	µg/L	2440 ± 24.80	2430 ± 23.8	1.96
Mercury, Hg ₁₀₉₅	Traceable to: NIST SRM 3133 Lot 061204	µg/L	9.73 ± 0.10	9.70 ± 0.125	1.96
Nickel, Ni ₁₁₀₅	Traceable to: NIST SRM 3136 Lot 000612	µg/L	1310 ± 13.50	1340 ± 8.6	1.96
Selenium, Se ₁₁₄₀	Traceable to: NIST SRM 3149 Lot 992106	µg/L	1530 ± 15.56	1530 ± 9.57	1.96
Vanadium, V ₁₁₅₅	Traceable to: NIST SRM 3165	µg/L	1440 ± 14.74	1480 ± 9.97	2.05
Zinc, Zn ₁₁₉₀	Traceable to: NIST SRM 3166a Lot 001402	µg/L	774 ± 7.90	772 ± 5.49	1.96
Aluminum, Al ₁₂₀₀	Traceable to: NIST SRM 3101a	µg/L	1800 ± 18.38	1850 ± 12.1	1.96



Certificate of Analysis

Trace Metals 1 - WP

Certified Reference Material

Number QCI-034-1
 Lot 016276
 Solvent (Matrix) Water, 5% Nitric
 Hazard Toxic, Corrosive
 Storage & Handling Store at room temperature, 18 to 20°C.
 Expiration Date See Sample Label
 Certification Date: 8/3/2010
 Certified By: 

Christopher Rucinski - QA Director

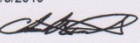
Performance Data (uncertified values)

Analyte	Units	Study ^{2,5} Mean	Standard ³ Deviation	Suggested ⁴ Acceptance Limits
Arsenic, As	µg/L	774 ± 13.9	42.0	648 to 900
Beryllium, Be	µg/L	238 ± 2.89	6.82	204 to 272
Cadmium, Cd	µg/L	61.5 ± 1.21	4.14	50.5 to 70
Chromium, Cr (total)	µg/L	411 ± 7.56	25.7	358 to 467
Cobalt, Co	µg/L	328 ± 6.36	15.7	287 to 367
Copper, Cu	µg/L	79.9 ± 1.30	4.64	70. to 92.0
Iron, Fe	µg/L	2,890 ± 43.5	112	2550 to 3240
Lead, Pb	µg/L	1,730 ± 28.0	96.0	1500 to 1910
Lithium, Li	µg/L	435 ± 21.7	29.9	316 to 588
Manganese, Mn	µg/L	2,450 ± 42.4	108	2200 to 2710
Mercury, Hg	µg/L	9.34 ± 0.955	2.43	5.99 to 13.2
Nickel, Ni	µg/L	1,310 ± 17.6	57.3	1180 to 1470
Selenium, Se	µg/L	1,510 ± 29.4	84.4	1220 to 1770
Vanadium, V	µg/L	1,430 ± 30.1	68.2	1260 to 1610
Zinc, Zn	µg/L	779 ± 14.9	50.7	665 to 890
Aluminum, Al	µg/L	1,760 ± 49.1	123	1480 to 2100

Certificate of Analysis

Trace Metals 1 - WP

Certified Reference Material

Number QCI-034-1
Lot 016276
Solvent (Matrix) Water, 5% Nitric
Hazard Toxic, Corrosive
Storage & Handling Store at room temperature, 18 to 20°C.
Expiration Date See Sample Label
Certification Date: 8/3/2010
Certified By:  Christopher Rucinski - QA Director

Additional Information

Description

This sample is intended as a Quality Control Check sample for, but not limited to validating calibration curves, method validation, analyst training, and matrix spikes.
This sample is not intended for calibration purposes.
This sample is packaged as a 20mL concentrate.
The solvent for this sample is 5% nitric acid by volume in DI water.
The sample has not been preserved.

Homogeneity and Assay

For homogeneity assessment a sample size of 10mL was used.
Homogeneity and assay values were determined by ICP-OES for all analytes.
The sample is considered homogeneous as required by RTC's LSOP116-1.

Sample Preparation

To prepare solution, partially fill a 1000-mL volumetric flask with reagent-grade water (near 20 degrees C) and add 1 mL of trace-metal-grade nitric acid.
Shake ampule well prior to opening.
Open ampule QCI-034-1 (be careful to avoid cuts on glass) and transfer 10.0 mL of concentrate to the volumetric flask.
Fill the flask to volume with reagent-grade water and mix well.
The sample is now ready for immediate analysis.
A reagent-grade blank should be analyzed concurrently for background correction.
The water blank should be made to match the acid matrix of the standards and samples.

NOTE: The 0.15% v/v nitric acid specification is a minimum; the amount and type of acid may be altered to routine analytical procedures if needed.

1. Assigned value is the gravimetric or prepared value and is analytically verified by RTC with associated uncertainties from the preparation and analytical procedures. This is the value the laboratory should use for comparison and quality control purposes.

2. Expected values are the robust statistical mean when prepared according to instructions from an Inter-laboratory Study or are based on historic Inter-laboratory Study Results (i.e. TNI Fields of PT Tables).

3. The standard deviation is the robust statistical standard deviation from the round robin inter-laboratory study.

4. Acceptance limits are based on US EPA RCRA, WS, and WP Inter-laboratory Study Results.

5. Expanded Uncertainty - All uncertainty values in this document expressed as a value are expanded uncertainties. The uncertainty of the certified value includes the uncertainties associated with the gravimetric preparation, sample homogeneity and sample stability (if significant). This value should be used to propagate into the user's uncertainty.

6. Coverage factor derived from a t-distribution table, based on the degrees of freedom of the data set. Confidence interval = 95%.

7. Assay Value - Mean of RTC's analytical measurement as specified by the scope for ISO/IEC 17025:2005 Testing Laboratory. The uncertainty associated to this value includes RTC's method bias as well as gravimetric and homogeneity error. This value should not be propagated into the user's results.

102 36

Traceability: The standard was manufactured under an ISO/IEC 17025:2005 certified quality system. The balance used to weigh raw materials is accurate to +/- 0.0001g and calibrated regularly using mass standards traceable to NIST. All dilutions were performed gravimetrically. Additionally, individual analytes are traceable to NIST SRMs where available and specified above.

THIS PRODUCT WAS DESIGNED, PRODUCED AND VERIFIED FOR ACCURACY AND STABILITY IN ACCORDANCE WITH ISO/IEC 17025:2005 (AClass Cert AT-1467) and ISO GUIDE 34:2009 (AClass Cert AR-1470).

MSDS reports for components comprising greater than 1.0% of the solution or 0.1% for components known to be carcinogens are available upon request.



Page 3 of 3



2931 Soldier Springs Road
Laramie, WY 82070
Phone: 307.742.5452
Fax: 307.745.7936
Web: www.RT-Corp.com

**ANEXO 6 CONSTANCIA DE LA
ELABORACIÓN DEL TRABAJO DE
INVESTIGACIÓN**



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

Quito 13 de Junio del 2012

CERTIFICADO

El laboratorio OSP, Área de Química Ambiental de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central de Ecuador, Certifica:

Que la Señorita Mayra Verónica Vásconez Novoa con cédula de identidad 171945398-5, ha desarrollado su trabajo de titulación cuyo tema es: **"VALIDACION DEL METODO DE ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA ELECTROTÉRmica DE COBRE Y VANADIO EN AGUAS LIMPIAS Y RESIDUALES."** en el Área de Química Ambiental por un lapso de cinco meses: Marzo, Abril, Mayo, Junio y Julio del 2011, tiempo en el cual ha demostrado puntualidad, conocimiento y colaboración en su trabajo.

La señorita Mayra Vásconez puede hacer uso del presente certificado como crea conveniente

Atentamente

B.F. Magaly Chasi
Laboratorio de Química Ambiental OSP



Dirección: Francisco Mendieta y Gilberto Gallo Sobral - Teléfonos: 2502-262 / 2502-456, ext. 15, 18, 21, 33, 37
Teléfono: 3226-740 - Web: www.ficquimica.ucel.edu.ec - E-mail: laboratorioosp@hotmail.com

